This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.

2 45 0019 2195
STANFORD MEDICAL LIBRARY

:: G. HERXHEIMER, ::

TECHNIK DER PATHOLOGISCH-HISTOLOGISCHEN UNTERSUCHUNG

LELAND·STANFORD·JVNIOR·VNIVERSITY

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIV MED CTR
APR 23 1987
STANFORD, CA 94305

616.02
H581

Technik

der

Pathologisch-histologischen Untersuchung

Von

Prof. Dr. Gotthold Herxheimer
Prosektor am Städt. Krankenhaus zu Wiesbaden

Technik

der

Pathologisch-histologischen Untersuchung

Von

Prof. Dr. Gotthold Herxheimer

Prosektor am Städt. Krankenhaus zu Wiesbaden

Stanford Library

Wiesbaden

Verlag von J. F. Bergmann

1912

215513

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht in alle Sprachen vorbehalten.
Copyright by J. F. Bergmann 1912.

STANFORD LIBRARY

Vorwort.

Vorliegende »Technik« verdankt ihre Entstehung der Initiative des rührigen Verlegers, Herrn Dr. Bergmann. Den Plan Schmaus', seinen »Grundriss der pathologischen Anatomie« durch eine Darstellung der pathologisch-histologischen Methodik zu ergänzen — bei deren ersten Vorarbeiten ihn der frühe Tod ereilte —, hielt Herr Bergmann fest und vertraute mir die nicht leichte Aufgabe an, an deren Ausführung ich aber erst jetzt gehen konnte.

Naturgemäß musste die »Technik«, wenn auch als Ergänzung des von mir fortgeführten »Grundrisses« gedacht und soweit wie möglich in ihrer äusseren Einteilung an ihn angeschlossen, doch ein vollständig selbständiges Werk werden. Hier, wo die praktische Anwendung der einzelnen Methode auch die Darstellung aller ihrer Einzelheiten erheischt, ist die Form des »Grundrisses« ausgeschlossen. Und doch war es mein Bestreben, auch bei dieser Einführung in die Methodik auf den Anfänger, insbesondere den Studenten, Rücksicht zu nehmen. Er soll in das so wichtige Gebiet der histologischen Technik mehr theoretisch eingeführt und zugleich zur praktischen Arbeit angeregt, sowie bei der Ausführung dieser geleitet werden. Gleichzeitig aber muss eine Darstellung der Technik auch dem Geübteren Übersicht über die Methoden, welche er benötigen könnte, bieten. In der Vereinigung dieses doppelten Zieles lag die Schwierigkeit.

Es gliedert sich so das Buch von selbst in zwei grosse Teile. Der erste umfasst Kapitel 1—9. Hier wird die Entstehung des mikroskopischen Schnittes, seine Weiterbehandlung und Färbung im allgemeinen dargestellt. Wenn ich von wenigen Abschnitten, wie Härtung und Entkalkung absehe (welche mehr rezeptartige Einzelheiten enthalten), hoffe ich diesen Teil in eine Form gebracht zu haben, dass er vom Anfänger als Einführung in das Gebiet im Zusammenhang

gelesen werden kann. Die übrigen Kapitel gelten den einzelnen Farbmethoden. Ich hoffe hier meinem doppelten Ziele dadurch näher gekommen zu sein, dass ich drei verschiedene Drucke verwandte. Die gebräuchlichsten Methoden sind in Grossdruck gehalten. Zudem sind bei den wichtigsten Kapiteln kurze Zusammenstellungen in hervorstechendem Drucke gegeben. Dies gilt für den Anfänger als Hilfe bei der praktischen Arbeit. Indem ich nun ganze Kapitel, welche auf dem Gebiete gerade der pathologisch-histologischen Technik weniger Bedeutung erheischen, in mittlerem Druck, sowie solche Methoden, welche, wenn auch weniger gebräuchlich, für mehr spezialistisch Arbeitende oder für bestimmte Zwecke doch sehr wichtig sein können, in Kleindruck anführe, hoffe ich auch demjenigen, der von einer Technik mit Recht auch eine gewisse Vollständigkeit verlangt, Genüge zu tun. Wirkliche Vollständigkeit ist ja bei der Unmenge der gerade in den letzten Jahren mitgeteilten Methoden unmöglich. Die richtige Auswahl bietet hier eine Hauptschwierigkeit. Im allgemeinen habe ich nur solche Methoden aufgenommen, welche sich uns bei der Nachprüfung als vorteilhaft erwiesen. Da dieser Beurteilung naturgemäß viel Subjektives anhaftet, liegen hier manche Unterschiede gegenüber den bekannten älteren Büchern der pathologisch-histologischen Technik — so vor allem denjenigen von Schmorl und von v. Kahlden-v. Gierke — vor und gerade die gegenseitige Ergänzung mag Manchem, der Spezielles sucht, willkommen sein.

Die Technik darf nie Selbstzweck sein. Als Mittel zur Erforschung biologischer Geschehnisse aber ist sie von unendlichem Werte. Wenn dies Büchlein daher mit seinen älteren Schwesterbüchern die praktisch-histologische Arbeit fördert und vor allem den Einen oder Anderen zu solcher anregt, so hat es Existenzberechtigung im Dienste medizinischer Wissenschaft.

Gotthold Herxheimer.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Kapitel I. **Einleitung. Instrumente und Utensilien** 1
Mikroskop und Nebenapparate 3
Polarisationseinrichtung 7
Dunkelfeldbeleuchtungseinrichtung 8
Mikrospektroskopische Vorrichtungen 9
Reproduktion mikroskopischer Bilder 9
Mikrophotographie 11
Sonstige Utensilien und Instrumente 13

Kapitel II. **Untersuchung frischer Präparate** 18
Indifferente Untersuchungsflüssigkeiten 19
Vitale bezw. supravitale Färbung 21
Untersuchung von Flüssigkeiten 22
Abstrich-, Quetsch-, Zupfpräparate 23
Mazerationsflüssigkeiten 23
Schnittpräparate 24

Kapitel III. **Gefriermethode** 25
Gefriermikrotome und Gefrierschnitte 26
Aufkleben von Gefrierschnitten 30

Kapitel IV. **Fixierung und Härtung** 32
1. Formol 34
2. Alkohol 37
3. Aceton 39
4. Chromsäuremischungen: Müllersche Flüssigkeit 39
Erlickysche Flüssigkeit 40
5. Sublimat: Zenkersche Lösung, Hellysche Flüssigkeit 41
6. Osmiumsäure und ihre Gemische: 42
Flemmingsches Gemisch 43
Hermannsches Gemisch 43
Marchisches Gemisch 43
Altmannsches Gemisch 43
7. Pikrinsäure und ihre Gemische 44
8. Kochmethode 45
9. Gefrier- und Austrocknungsmethode nach Altmann 45
Anhang: Fixierung und Härtung makroskopischer Präparate (in natürlichen Farben) zu Sammlungszwecken 45
Aufhebung bezw. Einsendung von zur mikroskopischen Untersuchung bestimmten Gewebsstücken (ausserhalb von Instituten und dergl.) 46

Seite

Kapitel V. **Entkalkung, Entpigmentierung, Entfettung** 50
Entkalkung in:
1. Schwefliger Säure 51
2. Salpetersäure und ihren Gemischen 52
3. Salzsäure und ihren Gemischen 53
4. Trichloressigsäure nach Partsch 53
5. Pikrinsäure 54
6. Chromsäure-Salzen und -Mischungen 54
7. Ameisensäure 54
Entpigmentierung durch Oxydation oder Reduktion 56
Entfettung durch Alkohol, Äther, Chloroform etc. 56

Kapitel VI. **Einbettung** 57
1. Celloidineinbettung 59
Celloidinschnellmethode 62
2. Paraffineinbettung 63
Paraffinschnelleinbettung 67

Kapitel VII. **Das Schneiden eingebetteter Objekte** 69
1. Celloidinschnitte 70
2. Paraffinschnitte 70
Aufklebemethoden 71
3. Paraffinserienschnitte 73
4. Celloidinserienschnitte 74

Kapitel VIII. **Weiterbehandlung der Schnitte. Aufhellung. Einschliessen** 79
1. der Gefriermikrotomschnitte 79
2. der Celloidinschnitte 81
3. der Paraffinschnitte 83

Kapitel IX. **Farben und Färben** 87
Theorie des Färbeprozesses 88
Substantive und adjektive Färbung 89
Progressive und regressive Methoden 90
Über differenzierte Färbungen durch Anwendung basischer, saurer und neutraler Farbstoffe 91
Metachromasieen 91
Zusammenstellung der hauptsächlich verwendeten Farbstoffe nach chemischen Gesichtspunkten 93
Anhang: Injektion 95
1. Kalte Injektionsmassen 96
2. Warme Injektionsmassen 97
Metallimprägnation 99
Goldimprägnation 99
Silberimprägnation 99

Kapitel X. **Färben der allgemeinen Zellbestandteile** 101
A. Kernfärbungen 101
1. Hämatoxylinfärbungen 101
Alaunhämatoxylin nach Böhmer 103
„ „ Delafield 103
Saures Hämatoxylin nach Ehrlich 103
Hämalaun nach Mayer 103

Seite

Saures Hämatein nach Mann 104
Eisenhämatoxylin nach Weigert 104
„ „ Hansen 105
„ „ Benda 105
2. Karminfärbungen 106
Alaunkarmin 106
Karmalaun nach Mayer 106
Lithionkarmin 107
Boraxkarmin 107
Salzsäure-Karmin 107
3. Basische Anilinfarben 108
Bismarckbraun 108
Gentianaviolett 108
Fuchsin 108
Kresylviolett 108
Methylenblau 108
Safranin 109
B. Plasmafärbungen 109
Ammoniakkarmin nach Honegger 109
C. Kombinierte Kern- und Plasmafärbungen 110
I. Sukzessive Färbemethoden 110
1. Karmin und Pikrinsäure 110
2. Hämatoxylin und Eosin 111
3. Hämatoxylin und Orange G 111
4. Hämatoxylin und van Gieson-Lösung 112
II. Simultanfärbungen, Pikrokarmine 114
D. Methoden zur Darstellung der feineren Kernstrukturdetails, insbesondere der Mitosen 114
Kernkörperchen 119
E. Methoden zur Darstellung besonderer Protoplasmastrukturen . . . 119
Altmannsche Zellgranula 119
1. Darstellung nach Altmann 119
2. „ „ Schridde 120
3. „ „ Galeotti 121
4. Oxydasereaktion nach W. Schultze 121
Zelleinschlüsse (Russelsche Fuchsinkörper) 123
Trophospongienkanälchen nach Holmgren 124
F. Methoden zur Darstellung der Granula der Plasma- und Mastzellen . 124
Anhang: Stückdurchfärbung 126

Kapitel XI. **Darstellung der Intercellularsubstanzen** 128
A. Bindegewebe und Bindegewebsfibrillen 128
B. Elastische Fasern 138
Gleichzeitige Darstellung elastischer Fasern und anderer Bestandteile 141
a) Elastische Fasern und Tuberkelbazillen 141
b) „ „ „ grampositive Bakterien 141
c) „ „ „ Fett 142
d) „ „ „ feinste Bindegewebszellausläufer . . . 142

Kapitel XII. **Methoden zur Darstellung der bei regressiven Prozessen sich abspielenden Veränderungen** 146
A. Atrophie 146
B. Trübe Schwellung 147

Seite

C. Fettinfiltration und -Degeneration, sowie verwandte Prozesse . . . 148
Fettfärbungen: I. mit Anilinfarben 149
II. „ Osmiumsäure 151
III. sonstige Fettfärbungen 153
Darstellung der Fettsäuren, Seifen, Lipoide und Myeline 154
D. Schleimige Degeneration 159
E. Hyaline Degeneration 162
F. Amyloiddegeneration 163
a) Jodmethoden 164
b) Metachromasieen mit basischen Anilinfarben 165
Corpora amylacea 167
G. Glykogendegeneration 168
a) Braunfärbungen mit Jod 169
b) Bestsche Karminmethode und dergl. 170
H. Pathologische Verhornung 173
I. Keratin 173
II. Keratohyalin 173
III. Eleïdin 175
I. Abnorme Pigmentierung 175
I. Hämatogene Farbstoffe 176
II. Gallenpigmente 181
III. Autochthone Pigmente 182
IV. Von aussen eingeführte Pigmente 183
V. Niederschläge gelöst aufgenommener Farbstoffe 183
K. Verkalkung, Konkrementbildung 183
Anhang: Einige mikroskopische Reaktionen zum Nachweis in den Geweben befindlicher anorganischer und organischer Stoffe . . . 187
L. Nekrose 188

Kapitel XIII. **Methoden für lokale Zirkulationsstörungen, progressive Prozesse, Entzündungen und Geschwülste** 190
Fibrinmethoden 192

Kapitel XIV. **Methoden zur Untersuchung auf Parasiten** 201
A. Pflanzliche Parasiten 201
a) Bakterien 201
I. Untersuchung im frischen Präparat 201
II. „ „ Deckglastrockenpräparat 202
Färbung von Deckglastrockenpräparaten 203
Kombination mit Beizen 204
Gramsche Methode 206
III. Untersuchung und Färbung in Schnittpräparaten 208
IV. Darstellung bestimmter Bestandteile 211
A. Feinere Strukturdetails 211
B. Bakteriengranula 211
C. Sporen 212
D. Kapseln 213
E. Geisseln 214
V. Übersicht über die Färbungen der einzelnen Bakterien . . . 216
A. Kokken 216
B. Bazillen 218
Tuberkelbazillen 222
I. Gewinnung des Materials und Anreicherung desselben . 223
II. Färbung in Ausstrichpräparaten 225

Seite

III. Färbung in Schnittpräparaten 227
IV. Darstellung besonderer Wuchsformen 228
V. Unterscheidung der Tuberkelbazillen von anderen säurefesten Bazillen 231
C. Spirillen 233
b) Trichomyceten Hyphomyceten. Blastomyceten 233
B. Tierische Parasiten 236
a) Protozoen 236
I. Amöben 237
II. Trypanosomen 237
III. Spirochäten 238
Spirochaete pallida 238
IV. Malariaplasmodien 242
Anhang: Negrische Körperchen und Vaccinekörperchen 244
b) Würmer und Arthropoden 246

Kapitel XV. Methoden für die einzelnen Organsysteme und Organe . . 247

A. Blut und blutbildende Organe 247
I. Entnahme des Materials 248
II. Untersuchung am frischen Präparat 249
III. Deckglastrockenpräparate 252
Verschiedene Zellformen und ihre Charakteristika, insbesondere Granula 255
1. Leukocyten und ihre Vorstufen 255
2. Lymphocyten und ihre Vorstufen 255
3. Rote Blutkörperchen und ihre Vorstufen 256
4. Knochenmarkriesenzellen 256
Ehrlichsche Einteilung nach Granula 256
Färbungen der Blutausstriche: 257
a) Übersichtsbilder 257
b) Spezifische Granulafärbungen 263
I. Eosinophile α-Granulationen 263
II. β-Granulationen 264
III. Basophile γ- und δ-Granulationen 264
IV. Neutrophile Granulationen 265
V. Lymphocyten und ihre Granulationen 265
VI. Plasmazellen 266
VII. Basophile Granualtionen und Polychromasie der roten Blutkörperchen 267
VIII. Blutplättchen 267
c) Färbungen auf besondere Bestandteile 267
I. Glykogen 267
II. Fett 267
III. Parasiten 268
IV. Schnittpräparate 268
Anhang: Untersuchung von Blut zu gerichtl. Zwecken 273
B. Zirkulationsapparat 274
C. Respirationsapparat 276
Anhang: Untersuchung von Sputum 277
D. Verdauungsapparat 278
Magen- und Darminhalt (Gebrochenes) 279
Bakterien 280

Seite

E. Leber und Pankreas 281
I. Gallenkapillaren 282
II. Kupffersche Gitterfasern 283
III. Kupffersche Sternzellen 284
F. Harnapparat 286
Nieren- und Blasensteine 288
Harnuntersuchung 288
Nebennieren und chromaffiner Apparat 289
G. Nervensystem 291
Allgemeines 291
I. Methoden zur Darstellung der Ganglienzellen 294
Original-Seifen-Methylenblaufärbung von Nissl und ihre Modifikationen 294
II. Methoden zur Darstellung der Markscheiden 299
Weigertsche Methode und ihre Modifikationen 299
III. Methoden zur Darstellung der Achsenzylinder und Neurofibrillen 305
a) Färbungen mit Karmin, Hämatoxylin, Anilinfarben 306
b) Methoden zur Darstellung der Achsenzylinder (bezw. des sogen. Axomyeloplasma) nur an markhaltigen Nerven 309
c) Methoden zur exakten Darstellung der Achsenzylinder und Neurofibrillen, ersterer auch in marklosen Nerven 310
I. Bielschowskysche Methode und ihre Modifikationen . . 310
II. Ramòn y Cajalsche Methoden 311
IV. Methoden zur gleichzeitigen Darstellung mehrerer nervöser Strukturelemente 313
A. Golgi-Methoden 313
B. Vitale Methylenblaumethode Ehrlichs 316
V. Methoden zur Darstellung degenerierter Nerven 317
Marchi-Methode und ihre Modifikationen 318
Fettkörnchenzellen 321
VI. Methoden zur Darstellung der Neuroglia 322
Weigertsche Methode und ihre Modifikationen etc. 322
VII. Peripheres Nervensystem 330
VIII. Hypophyse und Epiphyse 332
Anhang: cytologische Untersuchung von Rückenmark- und Gehirnpunktionsflüssigkeiten 334
H. Bewegungsapparat 334
a. Knochen 334
Untersuchung unvollständig entkalter Knochenstücke 336
Darstellung einzelner Knochenstrukturen 338
I. Sharpeysche Fasern 339
II. Knochenlakunen und ihre Ausläufer 339
b. Knorpel, Gelenke, Muskeln etc. 343
J. Genitalapparat 344
a) Weiblicher Genitalapparat 344
b) Männlicher Genitalapparat 345
Anhang: Untersuchung von Samenflecken zu gerichtlichen Zwecken 346
K. Äussere Haut 347
Methoden zur Färbung der Epithelfasern 348
Autorenregister 351
Sachregister 357

Kapitel I.

Einleitung. Instrumente und Utensilien.

Zweck mikroskopischer Untersuchung ist, Objekte zu studieren, welche zu klein sind, um in allen Einzelheiten mit blossem Auge erkannt werden zu können. Ganz besonders ist dies bei der genauen Erkennung krankhaft veränderter Gewebe — und nur von den Untersuchungsmethoden der pathologisch-histologischen Technik soll in diesem Buche die Rede sein — vonnöten. Einmal bestätigt hier das Mikroskop Diagnosen, wie sie schon makroskopisch angenommen waren und stellt deren genauen Stand, vor allem auch die quantitativen Verhältnisse weit sicherer als dies mit blossem Auge möglich ist, fest; andererseits deckt das Mikroskop erst Veränderungen und zwar oft solche von äusserster Wichtigkeit auf, welche makroskopisch überhaupt nicht erkannt werden konnten. So ist das Mikroskop nicht nur zur Diagnosenstellung von äusserster Wichtigkeit, sondern auch zur Erkennung der Hochgradigkeit eines pathologischen Prozesses, und insbesondere gibt die histologische Untersuchung oft erst Aufschluss über inneren Zusammenhang mehrerer Erkrankungen, über die Genese und besonders über die Ätiologie, soweit belebte Krankheitserreger in Frage kommen. Betont werden soll hier, dass die Sicherheit mikroskopischer Erkennung niemals dazu verleiten darf, die Wichtigkeit des schon mit blossem Auge zu Erkennenden zu vernachlässigen. Beide Methoden ergänzen sich gegenseitig und liefern erst zusammen ein abgerundetes Bild. Als eine Art Zwischenmittel zwischen dem unbewaffneten Auge und dem Mikroskop kommt eine einfache Lupe sehr häufig in Betracht, und ist als Unterstützung dessen, was das unbewaffnete Auge erkennen kann, sehr häufig von grossem Wert.

Das Material zur mikroskopischen Untersuchung stammt teils vom Lebenden, teils von Sektionen. Bei ersterem handelt es sich um Flüssigkeiten (veränderte oder pathologische Sekrete oder Exkrete), oder um spontane oder zumeist operativ entfernte Gewebsstücke. Von besonderer Schwierigkeit und Verantwortlichkeit kann die Untersuchung in diesem Falle sein, wenn es sich um kleine Probeexzisionen, Ausschabungen und dergl. handelt, von deren mikroskopischer Untersuchung der Praktiker eine grössere Operation abhängig macht. Die

oft sehr kleinen und schwer zu orientierenden Stückchen können hierbei ausserordentliche Schwierigkeiten bieten. Auch ist hier oft äusserste Schnelligkeit der Untersuchung geboten.

Stehen grössere Massen von Geweben oder ganze Organe zur mikroskopischen Untersuchung zur Verfügung, so ist die Wahl der richtigen Stelle sehr wichtig. Allerdings hängt diese von dem richtig geschulten Blick ab und, gerade hier gehen makroskopische und mikroskopische Untersuchung Hand in Hand. Hierbei ist auch die Schnittrichtung von grosser Wichtigkeit. Als Beispiel sei die Niere erwähnt, in welcher man stets senkrecht zur Kapseloberfläche schneidet, sodass Mark und Rinde im selben Schnitt getroffen sind. Oder das Gehirn, bei welchem eine ähnliche Schnittrichtung in der Regel angezeigt ist, oder der Darm, Gefässe etc., bei welchen man, um alle Schichten zu treffen, von der Serosa bis zur Mukosa bezw. von der Adventitia zur Intima quer schneidet. Eine richtige Beurteilung der Menge des Bindegewebes im Herzmuskel, wie sie oft sehr wichtig ist, wird z. B. durch eine im Hinblick auf die Muskelfasern quere Schnittrichtung überaus erschwert. Des weiteren kann man als allgemeine Regel aufstellen, dass man das als verändert erkannte Gewebe im Zusammenhang mit gesund erscheinendem schneiden soll, sodass ein und derselbe Schnitt das kranke wie das gesunde Nachbargewebe und eventl. die Übergänge zwischen beiden darstellt und somit Vergleiche ermöglicht. Auch ist es von Wichtigkeit, eine genügende Zahl verschiedener Stücke desselben Organs zu schneiden, da sich sonst leicht gerade die wichtigste Veränderung der Beobachtung entziehen kann. Als Beispiel seien chronische Entzündungen erwähnt, in welchen sich eventl. nur an einer Stelle ein Karzinom entwickelt, sodass, wenn diese nicht geschnitten wird, gerade die wichtigste Feststellung dem mikroskopischen Urteil entgehen kann. Stehen nur ganz kleine Massen operativ entfernten Gewebes zur Verfügung und ist eine Orientierung unmöglich, so legt man oft, wenn möglich, Schnitte in zwei aufeinander senkrecht stehenden Richtungen an, sodass dann auf jeden Fall die zur Beurteilung wichtige Schnittrichtung getroffen ist.

Am einfachsten in der Behandlung sind die Untersuchungen von Flüssigkeiten. Hier genügt — und ist in der Regel allein möglich — die frische Untersuchung am gefärbten oder ungefärbten Präparat. Auch sonst ist diese frische Untersuchung sehr wichtig und angängig an kleinen Gewebsmassen in Form von Quetschpräparaten oder dergl., oder zur schnellen Orientierung, wenn dicke Schnitte (mit dem Rasiermesser, Doppelmesser oder eventl. Gefriermikrotom ausgeführt) genügen (s. Kap. II). Auch ist die Untersuchung am frischen Objekt, um dies im unveränderten Zustand auf mikrochemische Reaktionen oder dergl. zu untersuchen, oft sehr wertvoll. Im ganzen aber ist die

Untersuchung am frischen Objekt in den letzten Jahrzehnten ungemein zurückgetreten gegenüber der Technik, die Gewebsstücke zu fixieren und zu härten und nun in feinere Schnitte zu zerlegen, um sie somit Färbungsmethoden, mikrochemischen Reaktionen etc. unterziehen zu können. Manche Fixierungs- und Härtungsmittel eignen sich ganz besonders in Verbindung mit dem Gefriermikrotom, sodass schon hierbei dünne Schnitte erzielt werden können, welche man selbst sehr komplizierten Methoden unterziehen kann. Da diese Methodik einfach und schnell ausführbar ist und somit auch dem Praktiker, der seltener mikroskopisch arbeitet, besondere Vorteile bietet, soll ihr an der betreffenden Stelle dieses Buches ein besonderes Kapitel gewidmet werden.

Um Feinheiten zu studieren, oder wenn die Stücke zu weich oder auseinanderfallend sind, um mit der eben angedeuteten Methode geschnitten werden zu können, oder wenn eine fortlaufende Kette von Schnitten (Serienschnitte) benötigt wird, müssen die Stücke nach ihrer Härtung in gewisse Medien eingeschlossen werden, um dann auf komplizierteren Mikrotomen geschnitten zu werden. Wir bezeichnen dies Verfahren als Einbettung.

Die auf eine dieser Methoden gewonnenen Schnitte werden in der Regel zur deutlicheren Sichtbarmachung ihrer Struktur oder besonderer Bestandteile einem oder mehreren Färbungsprozessen unterzogen. Sind diese beendet, so werden die Schnitte in der Regel ihres Wassers beraubt, aufgehellt und zwischen Objektträger und Deckgläschen mittels eines durchsichtigen Mediums (meist Kanadabalsam) der mikroskopischen Untersuchung zugänglich gemacht.

Zu den komplizierten Vorgängen der mikroskopischen Technik gehört natürlich auch eine gewisse Zahl von **Instrumenten und Utensilien,** von denen nunmehr kurz die Rede sein soll.

Von den Instrumenten ist in erster Linie naturgemäß ein Mikroskop vonnöten. Eine genaue Beschreibung desselben, vor allem auch von optischen Gesichtspunkten aus, soll hier ebensowenig gegeben werden, wie genauere Maßregeln für seine Anwendung. Diese erlernen sich nur beim Gebrauch. Nur wenige Punkte sollen hier angeführt werden, und im übrigen sei auf die ausführlichen Bücher von Frey, sowie Behrens, Kossel und Schiefferdecker verwiesen.

Bei der Anschaffung eines Mikroskops wende man sich womöglich an einen bewährten Mikroskopiker mit der Bitte um Kontrolle des Instruments. Von den optischen Firmen seien in erster Linie für vorzügliche, wenn auch sehr teure Instrumente Zeiss (Jena), für billigere und ebenfalls sehr gute und dauerhafte, wie sie dem nicht gewohnheitsmäßig Mikroskopierenden vollständig genügen, diejenigen der Firma Winkel in Göttingen empfohlen. Des weiteren die Mikroskope von

Leitz (Wetzlar), Hartnack (Potsdam), Seibert (Wetzlar), Reichert (Wien) etc.

Man wähle ein grösseres Stativ. Dasselbe ist dauerhafter und vorteilhafter insofern, als man dann bei Anschaffung einer nur geringen Zahl von Objektiven im Anfang, sein Mikroskop später leicht vervollständigen kann. Das Stativ ist mit Charnier zum Umlegen versehen, was das Arbeiten bedeutend erleichtert und z. B. beim Mikrophotographieren nötig ist (s. dort). Zum Senken und Heben des Tubus trägt das Stativ die grobe Triebradeinstellung und eine feine Mikrometerschraube, welche besonders in der Bergerschen Modifikation der neuen Zeissschen Mikroskope äusserst exakt ist. Das Stativ trägt einen zweiseitigen Spiegel; die eine Seite ist plan geschliffen, die andere konkav. Letztere wird beim ungefärbten Objekt und des weiteren bei künstlicher Beleuchtung verwendet, ferner wenn ein Abbéscher Beleuchtungsapparat nicht zur Verfügung steht und stärkere Vergrösserungen angewandt werden sollen; der Planspiegel hingegen bei gefärbtem Objekt und Tageslicht, sowie Benutzung des Beleuchtungsapparates, eine Anordnung, welche heute zumeist zutrifft. Des weiteren findet sich seit Einführung der Ölimmersion an den Mikroskopen ein Abbéscher Beleuchtungsapparat, welcher eine weit hellere Beleuchtung gestattet. Als Objektiv wähle man ein schwaches und ein stärkeres, z. B A und D von Zeiss oder 3a und 7a von Winkel. Eine mittlere Vergrösserung ist häufig sehr angenehm, aber nicht unbedingt notwendig. Für gewisse Untersuchungen, vor allem des Gehirns, sind ganz schwache Übersichtsobjektive nötig. Bei Untersuchungen von Details und vor allem von Bakterien wird die Ölimmersion verwandt. Bei ihr wird zwischen die Frontlinse des Objektivs und das Deckgläschen, welches den Schnitt bedeckt, ein Tropfen Zedernholzöl gebracht, welches etwa den gleichen Brechungskoëffizienten wie das Glas hat, sodass die durch die sonst dazwischen liegende Luft gegebene Brechung fast ganz vermieden wird. Für den Anfänger ist es am meisten zu empfehlen, wenn er nicht gleich sich die teure Ölimmersion anschaffen will, sich zunächst mit zwei Vergrösserungen zu begnügen, einer, welche etwa 80mal und einer, welche etwa 300mal vergrössert. Die Objektive werden am besten an dem Stativ mittels eines dreiteiligen sogenannten Revolvers befestigt, der die schnelle und bequeme Auswechselung der Objektive gestattet Die Ölimmersion wird nur in Verbindung mit dem Abbéschen Beleuchtungsapparat verwendet. An Stelle der Zylinder- oder Scheibenblenden ist seit Einführung des Abbéschen Apparates fast allgemein die viel handlichere sogenannte Irisblende getreten. Gefärbte Präparate werden in der Regel bei ganz oder fast ganz offener Blende untersucht; besonders ist dies bei Anwendung der Ölimmersion und insbesondere bei der Untersuchung von Bakterien geboten, wo es sich fast nur um

das Farbenbild handelt. Bei ungefärbten Präparaten muss man, um die Strukturbilder zu erkennen, stark abblenden.

Von Okularen schaffe man sich ein schwaches und ein starkes an, z. B. Nr. 1 und 3 oder Nr. 2 und 4. Da starke Okulare nur eine Vergrösserung des Bildes, nicht eine wirkliche Vergrösserung darbieten, da sie das Gesichtsfeld verdunkeln und bei längerem Arbeiten die Augen anstrengen, wähle man für das allgemeine Arbeiten das schwache Okular. Vermieden werden diese Nachteile bei den allerdings sehr teuren apochromatischen Linsen, welche auch mit starken Okularen, sogenannten Kompensationsokularen verwendet werden können, und welche die sphärische Aberration auf ein Minimum reduzieren.

Zum Einstellen des Spiegels auf die Lichtquelle wähle man am besten einen weit entfernten Gegenstand und zwar am vorteilhaftesten eine Wolke. Blauer Himmel ist wegen seiner Eigenfarbe besser zu vermeiden, direktes Sonnenlicht auszuschliessen. Kein künstliches Licht kann das Tageslicht ersetzen; am besten ist noch Gasglühlicht. In diesem Falle benutzt man ein blaues Glas zum Abfangen der überflüssigen gelben Strahlen. Entweder man legt eine kleine blaue Glasscheibe, wie sie in dem Mikroskop mitgegeben wird, unter den Kondensor oder man bringt zwischen die Lichtquelle und das Mikroskop eine sogenannte Schusterkugel, d. h. eine Glaskugel, welche mit einer durch Ammoniakzusatz intensiven blau gefärbten Lösung von Kupfersulfat gefüllt ist. Es gibt auch eigens konstruierte Mikroskopierlampen, z. B. von Kochs, Wolz, Hartnack, Lassar u. a. Wichtig ist, dass die Lichtquelle tief steht, also ein Gasglühlicht z. B. auf dem Tische steht, nicht etwa an der Decke hängt.

Bei Verwendung der Ölimmersion bringt man einen Tropfen Zedernholzöl auf das Deckgläschen, stellt zunächst mit dem Triebrad so ein, dass die Linse gerade den Öltropfen berührt und stellt dann mit der Mikrometerschraube feiner ein, bis ein klares Bild erzielt ist. Soll das Öl von dem Deckgläschen entfernt werden, so tut man dies mit einem zarten Lederlappen unter Verwendung von etwas Xylol oder Benzin. Bei frischen Präparaten, deren Kanadabalsam noch nicht trocken ist, muss dabei das Deckgläschen am Objektträger festgehalten werden. Zur Entfernung des Öls von der Ölimmersion reibt man es mit einem weichen Lederläppchen ab. Sollte das Öl aber eingetrocknet sein oder durch Versehen eine Linse mit Kanadabalsam beschmutzt sein, so befeuchtet man das Lederläppchen mit etwas Xylol, hüte sich aber zu viel Xylol oder zu lange solches an die Linsen zu bringen, da sonst der die Linsen befestigende Kanadabalsam gelöst würde. Auch sonst reinigt man die Objektive mit dem Lederläppchen, event. unter Verwendung von etwas Alkohol. Zum Schutze gegen Staub etc. soll

das Mikroskop, wenn es nicht verwandt wird, bedeckt stehen, z. B. in dem beigegebenen Mahagonikasten oder unter einer Glasglocke.

Beobachtet man Flecken auf dem Präparat, so kann man durch Drehung des Okulars leicht feststellen, ob die Flecken, z. B. Staub, am Okular sitzen und sie dann von diesem entfernen oder indem man den Objektträger mit dem Präparat verschiebt, feststellen, ob die Flecken hier oder am Objektiv ihren Sitz haben.

Beim Mikroskopieren verwende man zunächst stets zur allgemeinen Übersicht die schwache Vergrösserung, sodann für Details die starke. Verwendet man nun nochmals die schwache, so wird man viel, was man vorher mit dieser nicht gesehen hat, jetzt auch schon mit schwacher Vergrösserung wahrnehmen können. Je geübter man wird, desto weiter wird man schon mit der schwachen Vergrösserung kommen können.

Zum Mikroskop gehören nun noch einige Nebenapparate, welche nicht im allgemeinen zum Mikroskopieren, sondern nur für bestimmte Untersuchungen erforderlich sind, deren Anschaffung also nicht eine von vornherein und allgemein notwendige ist. Hier sollen erwähnt werden:

1. Der bewegliche Objekttisch. Es gibt solche, welche dem Objekttisch selbst eingefügt sind, sowie solche, welche aufgeschraubt werden, welche man also je nach Wunsch auffügen oder abnehmen kann. Die letzteren sind vorzuziehen, da im allgemeinen die freie Bewegung des Präparates mit der Hand, besonders auch für den Anfänger vorzuziehen ist und die feine Bewegung mittels des Apparates nur für manche Details, für Blutzählungen und dergl. besondere Vorzüge bietet. Sehr praktisch sind auch die neuen Kreuztische von Zeiss und Anderen, welche, bei vollständiger Zentrierung, es gestatten, jede einzelne Stelle des Präparates durch Feststellung zweier Koordinaten sofort wiederzufinden.

2. Ein heizbarer Objekttisch zur Beobachtung lebender, sich bewegender Objekte. Die Erwärmung geschieht entweder durch eine kleine Flamme, oder durch Durchleiten von warmem Wasser, oder neuerdings auf elektrischem Wege. (Ein solcher Apparat wurde z. B. von Ross angegeben und ist zu beziehen von Drake und Gorham, 66 Viktoriastreet London.) Für Beobachtungen, welche sich über längere Zeit erstrecken, gibt es Konstruktionen, bei welchen das ganze Mikroskop in einen Wärmeschrank mit Thermoregulation eingesetzt wird.

3. Okularmikrometer (Okularglasmikrometer). Es ist dies ein kleines Glasplättchen, welches in dem Okular angebracht oder anbringbar (zwischen Augen- und Kollektivlinse) ist: es dient durch Ablesung eingeätzter Teilstriche zu Messzwecken. Die Skala des Okulars und das Bild müssen stets genauestens eingestellt sein, man messe nur in der Mitte und wiederhole (natürlich bei gleichem Tubus) die Messung

öfters. Statt der Messtriche bringt neuerdings Zeiss an dem Glasplättchen (nach Gebhardt) kleine schwarze und rote Quadrate an. Für jede einzelne Vergrösserung, d. h. Kombination des Objektivs und Okulars, sowie Tubuslänge muss die Grösse der Teilungsintervalle, d. h. des Abstandes zwischen zwei eingeätzten Teilstrichen, erst bestimmt werden. Zu diesem Zweck dient ein sogenanntes Objektmikrometer, d. h. ein Objektträger, auf dem ein mm in 100 gleiche Teile eingeteilt ist. Indem man vergleicht wieviel Teilstriche dieses Objektmikrometers auf den Abstand zwischen zwei Teilungsstrichen des Okularmikrometers gehen, kann die objektive Grösse der letzteren leicht ausgerechnet werden. Es gibt Mikrometer von Zeiss, bei welchen man bei bestimmter Tubuslänge die Messung dadurch sehr einfach vornehmen kann, dass die Grösse eines Intervalls zwischen zwei Teilstrichen soviel Mikra beträgt, als das Objektiv (nur Apochromate) Brennweite hat. Sehr gut kann man Messungen an mikrophotographischen Bildern vornehmen (s. unten), wie dies Kaiserling empfiehlt. Man misst am Negativ durch Vergleich mit dem bei derselben Vergrösserung photographisch aufgenommenen Objektmikrometer. Während diese Methoden die Maße in der Objektivebene feststellen, dient zur Höhen- bezw. Dickenmessung von Zellen etc. einerseits, der Deckgläschen andererseits, die Mikrometerschraube, an welcher man die nötige Zahl der Umdrehungen direkt ablesen kann (besonders bei der oben erwähnten Berger-Zeissschen Mikrometerschraube).

Es sei hierbei erwähnt, dass man sowohl die Grössenverhältnisse mikroskopischer Dinge, wie auch die Dicke der Schnitte nach einer Maßeinheit, welche als Mikron oder Mikromillimeter (abgekürzt μ) bezeichnet wird, misst und dass ein solches Mikron 0,001 mm beträgt.

4. Polarisationseinrichtung. Diese dient zur Untersuchung auf Doppelbrechung und ist besonders neuerdings durch unsere Kenntnis von fettähnlichen, doppeltlichtbrechenden Körpern wichtig geworden. Der Polarisationsapparat besteht aus einem Polarisator und einem Analysator. Ersterer von einem Nicolschen Prisma dargestellt, kann entweder in eine Zylinderblende eingeschoben oder in den Blendenträger des Abbéschen Beleuchtungsapparates eingehängt werden. Der Analysator wird am Tubus des Mikroskops über dem Okular befestigt: es gibt auch besonders konstruierte Apparate (Abbésche Analysatorokulare), welche statt eines anderen Okulars in den Tubus eingeschoben werden. Bei „parallelen Nicols", d. h. bei paralleler Stellung der Polarisationsebenen des Polarisators und Analysators erscheint das Gesichtsfeld hell. Bei „gekreuzten Nicols", d. h. bei aufeinander senkrecht stehenden Polarisationsebenen des Polarisators und Analysators erscheint das Gesichtsfeld dunkel. Seitliches Licht muss ausgeschaltet werden: man blendet am besten durch einen nur den Mikroskopspiegel frei-

lassenden Schirm ab. Zur Untersuchung stellt man das Objekt zunächst bei parallelen Nicols in der Mitte des Gesichtsfeldes scharf ein. Durch Herstellung gekreuzter Nicols (Drehung des Analysators um 90°) wird das Gesichtsfeld in das Maximum der Dunkelheit übergeführt und somit schon stärkere Doppelbrechung durch Aufleuchten erkennbar. Mittels des drehbaren Objekttisches dreht man nun das Objekt langsam um 360° ringsum, wobei doppeltbrechende Substanzen 4 mal aufleuchten und 4 mal dunkel erscheinen müssen, indem die Stellungen untereinander um je 45% voneinander verschieden sind. Wiederholt man dies, indem man das Präparat verschieden präpariert etc. und bleibt dasselbe stets dunkel, ohne bei der Drehung aufzuleuchten, so ist keine oder nur äusserst geringe Doppelbrechung vorhanden. Ist das Resultat zweifelhaft, d. h. eine aber nur äusserst geringe Doppelbrechung zu erkennen, so kann man die Probe dadurch noch sensibler gestalten, dass man auf den Polarisator sogenannte „verzögernde" Gips- oder Glimmerplättchen und zwar meist von Rot erster Ordnung auflegt und so einstellt, dass (bei gekreuzter Stellung der Nicols) das Gesichtsfeld das Rot erster Ordnung im Maximum seiner Intensität aufweist. Wird jetzt der Objekttisch mit dem Objekt um 360° gedreht, so erscheint das Objekt, wenn es doppeltbrechend ist, 4 mal in der Grundfarbe des Rot erster Ordnung, 2 mal in der sogenannten Additionslage, z. B. Dunkelpurpur, ebenso oft in der sogenannten Subtraktionslage, z. B. gelblich-braun.

5. Dunkelfeldbeleuchtungseinrichtung. Hierzu dient die Dunkelfeldblende im allgemeinen oder für besonders genaue Untersuchungen ein eigener Apparat, der sogenannte Paraboloidkondensor, welcher an Stelle des gewöhnlichen Kondensors eingesetzt wird. Die Dunkelfeldbeleuchtung dient zum Suchen kleinster, besonders ultramikroskopischer in Flüssigkeiten suspendierter Körperchen, besonders lebender Bakterien und hat als Schnellmethode zur Auffindung der Syphilisspirochäte in der Pathologie besondere Bedeutung erlangt. Bei Dunkelfeldbeleuchtung ist eine sehr starke Lichtquelle nötig, z. B. ein Gasglühlicht (Schusterkugel einschalten). Das Gasglühlicht soll in einem Abstand von etwa 15 cm von der Schusterkugel und diese ebensoweit vom Mikroskopspiegel entfernt aufgestellt werden. Es wird der Planspiegel verwandt; er soll möglichst gleichmäßig hell beleuchtet sein. Die Dunkelfeldblende wird am einfachsten so hergestellt, dass in den Diaphragmaträger des Abbéschen Beleuchtungsapparates eine 24 mm grosse Zentralblende eingelegt wird unter Verwendung eines gewöhnlichen Kondensors von der Apertur 1,4. Auf die Oberfläche des Kondensors, sei es des gewöhnlichen nach Einschaltung dieser Blende, sei es eines eigens eingefügten Paraboloidkondensors, wird ein Tröpfchen Zedernholzöl aufgebracht und der Objektträger darauf gepresst, ohne

dass Luftblasen dazwischen liegen dürfen. Objektträger wie Deckgläschen müssen besonders sorgfältig gereinigt werden, letzteres auch sehr dünn sein. Die zu verwendenden Objektive sind mittlere und vor allem starke Trockensysteme. Bei dieser Dunkelfeldbeleuchtung erscheinen die kleinen Gebilde, z. B. Spirochäten, als leuchtend helle Körperchen auf schwarzem Grund.

Für alle Einzelheiten bei Polarisations- und Dunkelfeldbeleuchtungsvorrichtungen halte man sich am besten an die den Zeissschen Apparaten beigegebene Gebrauchsanweisung.

6. Mikrospektroskopische Vorrichtungen dienen dazu, spektroskopisch im Mikroskop die genaue Lage von Lichtabsorptionsstreifen oder ihre Stärke festzustellen. Man verwendet sog. Spektralokulare, welche an Stelle der gewöhnlichen Okulare eingeschoben werden. Diese Methode kommt jedoch nur bei zu speziellen Untersuchungen zur Verwendung, um hier genauer beschrieben zu werden.

7. Zum Wiederauffinden bestimmter Stellen im Objekt dienen ebenfalls bestimmt konstruierte Apparate. Am praktischsten ist hier der bereits oben erwähnte bewegliche Kreuztisch von Zeiss etc. Sonst dienen hierzu die sogenannten Objektmarkierer. Nachdem man eine bestimmte Stelle am Präparat eingestellt hat, entfernt man das Objektiv und schraubt an seine Stelle einen kleinen Apparat ein, welcher, wenn man ihn auf das Objektiv senkt, entweder mit Tinte oder Farbe einen kleinen Kreis um die eingestellte Stelle des Präparates zieht, oder mittels eines feinen Diamanten einen Kreis in das Deckgläschen an der betreffenden Stelle einritzt. So ist diese Stelle markiert. Von Sachs-Müke sind „Objektfinder" (zu beziehen bei Gebr. Mittelstrass-Magdeburg — 15 Mk.) konstruiert worden, welche zu Seiten des Deckglases 2 Punkte an dem mit Papier bezogenen Objektträger markieren. In einfacher Weise kann man das gleiche auch nach de Vescovi dadurch erreichen, dass man seinen (feststehenden) Objekttisch in zwei aufeinander senkrecht stehenden Richtungen mit — am besten in zwei verschiedenen Farben gehaltenen — Strichen versieht. Markiert man nun die Stelle, wo diese Linien die Kanten des Objektträgers schneiden, an dem Objektträger, so kann man immer leicht ungefähr dieselbe Stelle des Präparates schnell wieder einstellen.

Zur Reproduktion mikroskopischer Bilder dient einmal das Zeichnen, andererseits die Mikrophotographie.

1. Als Hilfsapparate beim Zeichnen sind eine ganze Reihe von Zeichenapparaten konstruiert worden, welche dazu dienen, in demselben Gesichtsfeld das mikroskopische Bild und das Zeichenpapier zusammen sichtbar zu machen. Solche Apparate sind z. B. ein vorzüglicher von Edinger und ein besonders guter von Zeiss-Abbé konstruiert worden. Bei dem letzteren wird ein kleiner Apparat mit

einem Doppelprisma und einem gegen das Zeichenpapier um 45 Grad geneigten Spiegel am Tubus des Mikroskops angebracht und sodann erst das Okular eingesetzt. Man erkennt nun die auf das Zeichenpapier aufgesetzte Bleistiftspitze im mikroskopischen Bild und kann so die gewünschten Teile, indem man in das Mikroskop sieht, auf dem Papier umreissen. Die Beleuchtung der Zeichenfläche und des mikroskopischen Bildes muss dieselbe Intensität haben. Bei dem Abbéschen Apparat wird dies leicht durch Einschaltung verschieden dunkel abgestufter Rauchgläser, einmal für das Zeichenpapier, sodann für das mikroskopische Bild erreicht. Wegen Einzelheiten der Apparate sei auf die denselben beigegebenen Besprechungen verwiesen. Im allgemeinen dienen die Zeichenapparate nur zur Zeichnung von Konturen und sind besonders wertvoll, um in objektiver Weise Grössenverhältnisse, besonders die mehrerer Bestandteile, z. B. Zellen, gegeneinander festzulegen.

Hat der Zeichenapparat zu den zuletzt genannten Zwecken grosse Vorteile, so müssen die Details auch hier meist mit freier Hand eingezeichnet werden, und es gibt andererseits Viele, die diese allerdings grössere Übung voraussetzende, aber freiere Methode überhaupt vorziehen. Das Einüben zeichnerischer Festlegung mikroskopischer Bilder ist für den Anfänger von besonderem Werte. Er beginne damit, sich nur einzelne Zellen oder dergl. abzuzeichnen; er lernt hierbei, sich über die genauesten Strukturbestandteile des Abzuzeichnenden, über die Grössenverhältnisse etc. selbst Rechenschaft zu geben, und somit ist das Zeichnen als ein wesentlicher Bestandteil des Mikroskopierens gerade dem Lernenden zu empfehlen. Zugleich dient das Zeichnen als objektive Unterlage, um durch Vornahme von Korrekturen auf Punkte, welche nicht exakt erkannt oder wiedergegeben sind, aufmerksam zu machen, oder um Stellen zu bezeichnen, welche etwa besonders aufgefallen und noch unklar sind oder dergl. mehr. Eine Einübung der zeichnerischen Wiedergabe ist also besonders zu empfehlen. Anfänglich missglückende Versuche dürfen nicht zurückschrecken. Während derjenige, welcher das Talent perspektivischen Zeichnens makroskopischer Gegenstände besitzt und geübt hat, sich schnell auch in das mikroskopische Zeichnen einarbeiten und künstlerische Abbildungen hervorbringen wird, muss der allgemein zeichnerisch Ungeübte wohl hierauf verzichten, wird es aber doch durch einige Übung dahin bringen, Wiedergaben mikroskopischer Bilder zu schaffen, welche obigem Zwecke genügen. Bei dieser Übung wird das Sehen und das Erkennen mikroskopischer Bilder gleichzeitig bedeutend verschärft.

Man kann mikroskopische Bilder entweder schwarzweiss oder mit Farbe wiedergeben. Ersteres ist besonders zur Einübung der Reproduktionen von Zellendetails nützlich, letzteres gibt die durch verschiedene Färbung erkennbaren verschiedenen Strukturbestandteile

mikroskopischer Bilder in möglichst dem Original entsprechenden Farbtönen wieder. Es schärft hierbei den Farbensinn, welcher ja auch bei der Betrachtung gefärbter Objekte eine grosse Rolle spielt und fällt dem zeichnerisch Ungeübten meist leichter als das Bleistiftzeichnen.

Als Papier wähle man am besten ziemlich glattes Kartonpapier oder Zeichenpapier. Man bringt dasselbe auf einen Zeichentisch, welcher dem Arm eine gute Stütze bieten, und welcher sich in gleicher Höhe mit dem Objekttisch befinden soll, um die Vergrösserung im Mikroskop und im Bild direkt miteinander vergleichen zu können. Die Bleistifte sollen ziemlich hart sein, statt derselben kann der Geübtere Zeichenfedern oder ganz feine Pinsel mit Tusche benutzen. Zur farbigen Reproduktion können nur Wasserfarben verwandt werden. Auch hier zeichnet man sich die Konturen des Gesamtbildes zunächst im wesentlichen, wenn auch ganz dünn, mit Bleistift ein. Vielfach ist es gut, sodann die ganze Bildfläche mit einer hellen Grundfarbe zu überziehen und eventl. durch sofortiges Abtrocknen mit Fliesspapier nur eine ganz dünne Schicht derselben stehen zu lassen. Auch sonst kann man das Fliesspapier bei der Farbenwiedergabe vielfach mit Vorteil benutzen. Soweit die Präparate selbst mit wässrigen Flüssigkeiten gefärbt sind, kann man vielfach auch die gleiche Farbe beim Malen benutzen.

2. Zur objektiven Reproduktion mikroskopischer Bilder dient am besten die Mikrophotographie, welche aber ein weit eingeengteres Arbeitsfeld als die zeichnerische Wiedergabe hat. Besonders der Anfänger wird in der Regel Zeichnungen viel leichter „lesen" können als Mikrophotogramme. Zudem hängt der Ausfall der letzteren ausserordentlich von den zur Färbung der Präparate benutzten Farblösungen ab. So geben, wie leicht zu verstehen ist, mit Silber imprägnierte Präparate, bei welchen nur, ähnlich wie bei der Photographie, selbst schwarz und weiss, sowie mittlere Töne, aber keine eigentlichen Farben vertreten sind, besonders gute photographische Resultate. Gute Mikrophotographierapparate werden vor allem von Zeiss, Winkel und Leitz etc. hergestellt; wegen aller Anwendungsregeln sei auf die speziellen Kataloge dieser Firmen verwiesen.

Am schwierigsten gestaltet sich in der Regel das Photographieren ganz schwacher Vergrösserungen. Am geeignetsten hierzu sind besonders konstruierte Objektive (sogenannte Mikroplanare von Zeiss), welche nur in Verbindung eines besonders weiten Tubus (mikrophotographische Stative) verwandt werden können. Stärkere Vergrösserungen andererseits kann man auch unabhängig von dem mikroskopischen Bild selbst durch Ausziehen der photographischen Kamera erreichen. So ist es oft vorteilhaft, statt der Ölimmersion ein starkes Trockensystem in Verbindung mit stärkerem Okular und stärkerer Ausziehung der Kamera zu verwenden, wodurch ähnlich starke Vergrösserungen hergestellt werden können.

Am besten sind die Apochromate (s. oben), welche auch ein Lichtfilter entbehrlich machen. Die Schnitte müssen in der Regel recht dünn sein (10 bis höchstens 15 μ) besonders bei starken Vergrösserungen. Die zu photographierenden Gesichtsfelder müssen zudem in einer Ebene liegen; Fehler machen sich hier im photographischen Bild weit stärker bemerkbar, als im mikroskopischen Bild, wo sie durch die Mikrometerschraube leicht ausgeglichen werden. Ebenso geht es mit etwaigen Verunreinigungen der Präparate. Als Beleuchtungsquelle kann man zwar bei aufrechtstehendem Mikroskop und darüber befindlicher Kamera Sonnenlicht verwenden. Vorteilhafter ist es aber, das Mikroskop vollständig umzuklappen, die Kamera wagrecht zu stellen und als Lichtquelle hierbei künstliches Licht zu verwenden, z. B. Gasglühlicht, besonders Grätzinlicht oder Bogenlicht, eventl. auch Azetylenlicht. Man ist hierbei von dem Wechsel der Intensität des Tageslichtes unabhängig und kann sich leicht eine Normaldurchschnittszeit der Belichtungsdauer angewöhnen. Diese unterliegt dann aber doch noch nicht unbedeutenden Schwankungen. welche von der Färbungsart der Präparate, ihrer Dichte, der Dicke der Schnitte etc. abhängig sind. Naturgemäß muss man, je stärker die Vergrösserung ist, desto länger exponieren. Die Lichtquelle soll so weit entfernt stehen, dass eine zu grosse Erhitzung des Präparates vermieden wird. Man leitet dann durch eine Linse das Licht zum Präparat. Der Mikroskopspiegel muss naturgemäß bei Seite geschoben werden. Auch statt des Abbéschen Kondensors wählt man zumeist einen einfachen. Der Apparat muss vor Erschütterungen während der Expositionszeit naturgemäß sicher geschützt sein. Auch die zu verwendenden Blenden - man blende in der Regel so ab, dass nur das zentrale Drittel des Gesichtsfeldes erhellt ist — haben grossen Einfluss auf die Zeitdauer der Exposition. Sehr praktisch sind die neueren mittelgrossen Apparate von Winkel und Zeiss, bei welchen Lichtquelle, grosser Kondensor, eventl. anzuwendendes Farbfilter, Mikroskop und Kamera so vereinigt sind, dass eine gegenseitige Verschiebung ausgeschlossen ist. während die ganz grossen Apparate, z. B. von Zeiss, meist nur in Instituten zur Verwendung kommen. Für die Schärfe des Bildes kommt naturgemäß alles auf die scharfe Einstellung an, welche man zwar in der Regel an der Mattscheibe vornehmen kann, bei sehr starken Vergrösserungen sich aber zuweilen an der durchsichtigen Glasscheibe mittels einer Lupe empfiehlt. Als Platten verwende man am besten die Eosinsilberplatten. z. B. solche von Perutz-München. Während im allgemeinen nur die Schwarz-Weiss-Photographie in Betracht kommt. kann man auch zum Zwecke der Mikrophotographie sehr gut die neueren Methoden der Buntphotographie, vor allem die Lumièreschen Autochromplatten in Anwendung bringen. Diese Methode ist ja neuerdings auch ausserordentlich vereinfacht und verbilligt worden. Naturgemäß muss

man hierbei ausserordentlich viel länger exponieren und auch je nach der Lichtquelle, welche im allgemeinen sehr intensiv sein soll, ein verschiedenes Lichtfilder (Gelbscheibe) anwenden. Nach meiner Erfahrung gibt die von Lumière für das Tageslicht angegebene Gelbplatte auch bei Verwendung des Gasglühlichtes durchaus richtige Farbeffekte. Hat die Buntphotographie den Nachteil gewöhnlicher Photographie, dass die oft so wichtigen Farben gefärbter Präparate fehlen, beseitigt, so hat sie bisher andererseits den grossen Nachteil, nicht eine beliebige Zahl von Abzügen zu gestatten, sondern es können nur Negative und vor allem Diapositive, welche auch nur zu Projektionszwecken mit starken Projektionsapparaten (vor allem Epidiaskope) geeignet sind, hergestellt werden. Allgemein sei zur Mikrophotographie bemerkt, dass auch diese bei einiger Übung leicht gelingt.

Sonstige Utensilien und Instrumente.

Hier sollen zuerst diejenigen Instrumente erwähnt werden, welche zur Herstellung von Schnitten dienen. Es kommt hier zunächst das Rasiermesser in Betracht, welches aber heute seltener Verwendung findet; das Rasiermesser dient zum Schneiden mit freier Hand; es muss stets vollständig schartenlos und ganz scharf sein (Streichriemen). Man fixiert das Objekt mit der linken Hand, mit der rechten führt man das Rasiermesser, legt zunächst eine glatte Schnittfläche an, und sodann parallel zu dieser möglichst dünne Schnitte. In der Regel benutzt man das Rasiermesser am ungehärteten Objekt, seltener am gehärteten; Messer und Objekt sollen beim Schneiden feucht gehalten werden, frische Objekte mit Wasser oder besser physiologischer Kochsalzlösung, gehärtete mit dünnem Alkohol. Kann man das Objekt nicht recht mit der linken Hand halten, so kann man es auch in einen harten Körper, z. B. gehärtete Stückchen von Amyloidleber oder dergl. einklemmen und nun zugleich durch das Objekt und diese Umgebung Schnitte führen.

Des weiteren kommen hier die sogenannten Doppelmesser in Betracht, welche aber heute auch seltener gebraucht werden. Dieser Apparat besteht aus zwei nach unten zu geschärften Messern, welche so gegeneinander gestellt werden, dass nur ein ganz feiner Spalt zwischen ihnen bleibt. Dieser wird durch Eintauchen in Wasser mit Wasser gefüllt, und indem man nun mit leicht sägenden Bewegungen senkrecht auf die zu schneidenden Gewebsstücke einschneidet, wird eine dünne Scheibe aus ihnen herausgeschnitten, welche zwischen den Messern das Wasser verdrängt. Durch leicht seitliche Bewegungen wird dieser dünne Gewebsschnitt an seiner Unterfläche gelöst, und indem man die beiden Messer durch die an ihnen angebrachten Stellschrauben voneinander-entfernt, wobei man das Messer in Wasser eintaucht, wird der Schnitt frei und schwimmt in dem Wasser. Heute sind auch diese Doppel-

messer, welche ebenfalls nur relativ dicke Schnitte erlauben, fast vollständig verdrängt.

Die herrschenden Apparate zum Anfertigen dünner Schnitte sind heutzutage die Mikrotome. Hier kommen einmal die Gefriermikrotome in Betracht. Sie beruhen darauf, dass das meist gehärtete Objekt mittels Erzeugung von Kälte in einen Aggregatzustand übergeführt wird, in dem es leicht schneidbar wird. Eine automatische Messerhöherstellung gestattet sehr dünne Schnitte. Zur Erzeugung von Kälte dient bei den kleineren Mikrotomen der Äther, bezw. das Äthylchlorid. Jetzt wird meist komprimierte, flüssige Kohlensäure verwendet, besonders in Verbindung mit dem Becker-Sartoriusschen Mikrotom. Dieses gibt ausgezeichnete Resultate, auch dem Anfänger, ist relativ billig und auch in kleineren Betrieben verwendbar. Seiner Wichtigkeit wegen soll das Gefrierverfahren in einem eigenen Kapitel dargestellt werden, in welchem dies Mikrotom des genaueren beschrieben werden wird.

Von Mikrotomen stehen uns des weiteren kompliziertere Apparate einmal zum Schneiden von Celloidin-, des anderen von Paraffinblöcken zur Verfügung. Bei ihnen wird das Objekt, welches fest eingeklemmt ist, meist ebenfalls automatisch einstellbar, minimal gehoben, und indem das Messer, welches mit der rechten Hand, teils freihändig, teils mittels Hebelvorrichtung oder dergl. geführt wird, nach vorne gleitet, werden dünne Schnitte hergestellt. Vorzügliche Mikrotome werden von Schanze-Dresden, Sartorius-Göttingen, Jung-Heidelberg etc. geliefert. Für Paraffinserien gibt es noch eigens konstruierte Mikrotome, z. B. nach Minot, bei welchen das Messer feststeht, der Block gegen dieses bewegt wird. Für sehr grosse Übersichtsschnitte besonders des Gehirns werden besondere Mikrotome angefertigt (Tauchmikrotome). Über alle Einzelheiten dieser Mikrotome siehe Kapitel V.

Die Mikrotommesser müssen stets vollständig schartenlos und scharf sein. Sie sollen oft und vorsichtig auf einem Streichriemen abgezogen und von Zeit zu Zeit geschliffen werden; nach dem Schneiden mit Flüssigkeiten müssen die Messer sorgfältig getrocknet werden, und zwar so, dass man mit einem weichen Leinen- oder Lederlappen nach der Schneide zu, ohne diese zu verletzen, fährt.

Zur Einbettung in Paraffin ist ein auf 54—58° zu haltender Paraffinofen vonnöten. Am besten sind diejenigen mit thermoregulierbarer Gasheizung. Sie sollen an einem vor Zug und plötzlicher Temperaturänderung möglichst geschützten Ort aufgestellt werden. Ein bei 37° zu haltender Brütofen ist für manche mikroskopische Manipulationen sehr vorteilhaft, jedoch sei bemerkt, dass die Temperatur auf dem auf etwa 55° eingestellten Paraffinofen in der Regel etwa 37° beträgt.

Eine kleine Handzentrifuge oder, wenn sie zur Verfügung stehen, grössere Wasser- oder elektrische Zentrifugen sind zum Sedimen-

tieren von Flüssigkeiten sehr nützlich. Bei der neuerdings auch in pathologisch-anatomischen Laboratorien besonders häufig angewendeten Antiforminmethode zum Nachweis von Tuberkelbazillen leistet die Zentrifuge erhebliche Hilfe.

Die Objektträger sollen aus weissem, ganz ebenem Glase bestehen, eine bestimmte Dicke und ein bestimmtes Format besitzen (am handlichsten das sogenannte „englische"); sie müssen stets vollständig sauber sein.

Ebenso die Deckgläschen, welche in der Regel nicht dicker als 0,16 mm sein sollen: dünnere Deckgläschen sind zwar für bestimmte Zwecke sehr vorteilhaft, zerbrechen aber beim Reinigen entsprechend leichter. Es ist praktisch, ausser den quadratischen Deckgläschen des gewöhnlichen Formats für besonders grosse Schnitte auch grössere Deckgläschen vorrätig zu halten.

Sollen zahlreiche Schnitte zusammen auf einen Objektträger kommen, wie bei den Serienschnitten, so lässt man sich am besten (und billigsten) Gläser in der gewünschten Grösse schneiden (weisses, nicht grünes Glas verwenden) und bedeckt die Schnitte statt der Deckgläschen (die in dieser Grösse sehr teuer sind und leicht zerbrechen) mit Glimmerplättchen (zu beziehen bei Landsberg und Olendorff, Frankfurt a. M.), die man schon gespalten beziehen oder selbst abspalten kann.

Da sich nun bei den Objektträgern und Deckgläschen die Silikate stets zersetzen und so die Gläser mit alkalischen Silikaten bedeckt sind, müssen sie vor dem Gebrauch besonders gereinigt werden. Man kann sie z. B. in eine Mischung von 1%iger Schwefelsäure und 1%iger Chromsäure zu gleichen Teilen einlegen und zwar die Objektträger etwa 1 Stunde, die Deckgläschen 10 Minuten, dann die Säuren durch Einlegen der Gläser in destilliertes Wasser entfernen und die Gläschen sodann mit einem weichen Lappen trocknen und entweder in einem vor Staub geschützten Doppelglasschälchen trocken oder auch in absolutem Alkohol eingelegt aufbewahren.

Um gebrauchte Objektträger und Deckgläschen wieder voneinander zu entfernen, von Kanadabalsam, den Schnitten etc. zu befreien und beide wieder verwenden zu können, sind eine ganze Reihe von Methoden angegeben worden, so z. B. von Knauer, Funke, Zettnow etc. Die Knauersche Methode, welche den Vorzug der Einfachheit hat, besteht in Kochen in 10%iger Lysollösung im emaillierten Blechtopf (unter dem Abzug) etwa 1/2 Stunde lang, längerem Abspülen mit Leitungswasser und Trocknen. Vorher löst man am besten durch Erwärmen über der Flamme den Kanadabalsam, zieht Objektträger und Deckgläschen voneinander ab und reinigt beide getrennt. Man kann auch die Objektträger und Deckgläschen einige Tage in Xylol legen und sie sodann trocknen. Am empfehlenswertesten ist das Zettnowsche Verfahren. Man bereitet sich hierzu folgende Lösung: 200 gr doppeltchromsaures Kalium werden in 2 Liter heissem Wasser gelöst und unter ständigem Umrühren allmählich 200 ccm konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt. Die über der Flamme voneinander getrennten Objektträger und Deckgläschen werden besonders behandelt und zwar kommen die Deckgläschen in diese Flüssigkeit am besten in einer Porzellanschale und werden 10 Minuten lang in ihr unter stetigem Umrühren gekocht. Geschmolzener und oxydierter Kanadabalsam, der als grünliche Masse an die Oberfläche kommt, wird mit Filtrierpapier abgenommen. Die Deckgläschen werden sodann mit kaltem Wasser abgespült und 5 Minuten lang in verdünnte Natronlauge gelegt, sodann wird dies Verfahren nochmals

wiederholt, d. h. sie werden nochmals in der Kaliumchromicum-Schwefelsäurelösung gekocht, in Wasser abgespült und in die dünne Natronlauge gelegt, sodann kommen sie in mehrfach zu wechselnden Alkohol und werden mit einem weichen Leinentuch abgetrocknet. Einfacher behandelt man die Objektträger. Sie werden in der Zettnowschen Flüssigkeit 2—3 Tage lang liegen gelassen, mit kaltem Wasser abgespült und am besten mit einem alkoholbefeuchteten weichen Leinentuch getrocknet.

Es sei hier bemerkt, dass man insbesondere für Sputumuntersuchungen am besten stets ungebrauchte Objektträger benutzt (und ähnlich für andere bakteriologische Untersuchungen), da sonst etwa noch von früheren Untersuchungen am Glas haftende Bazillen falsche Resultate zeitigen könnten.

Weiter werden von Gläsern zunächst Glasschalen für die Flüssigkeiten in verschiedenen Grössen benötigt. Hier erweisen sich sogenannte Uhrschälchen im allgemeinen nicht als praktisch, da sie zu leicht umfallen und nur zu wenig Flüssigkeit aufnehmen können. Doch sind sie zweckmäßig, wenn Schnitte in der Flüssigkeit über der Flamme erhitzt werden sollen. Sonst werden einfache runde Glasschalen am vorteilhaftesten benutzt, welche entweder mit einem Glasdeckel oder mit einer umgekehrten, etwas grösseren Glasschale bedeckt werden können. Für besonders grosse Objektträger (z. B. Serienschnitte) sind die Porzellan- oder Glasschalen der photographischen Laboratorien gut zu verwenden.

Sollen eine grössere Reihe von Schnitten auf einmal weiter behandelt werden, so sind die sogenannten Steinachschen Siebdosen vorteilhaft (zu beziehen durch Grübler-Leipzig oder Siebert-Wien, Alsenstrasse). Es sind dies Glasgefässe, deren Boden wie ein Sieb perforiert ist, sodass die Schnitte in grösserer Zahl in diesen Dosen von einem Flüssigkeit haltenden Gefäss in ein anderes solches übertragen werden können.

Auch Objektträgergestelle nach Neumayer, in welche radiär eine ganze Reihe Objektträger mit Schnitten eingestellt werden können, sind für manche Zwecke brauchbar. (Zu beziehen bei Dr. Schwalm, München, Sonnenstrasse 10.)

Des weiteren braucht man Messgefässe verschiedenen Kalibers, Reagensgläser, Glastrichter mit einem Stativ, Glasstäbe und Glasröhrchen, Pipetten, Glasflaschen mit Korkstöpsel oder eingeschliffenem Glasstöpsel für die verschiedenen Flüssigkeiten und Lösungen: am besten auch Tropfgläser, besondere Gläschen für das Zedernholzöl mit einem hineinragenden Stäbchen oder dergl., um je einen Tropfen entnehmen zu können, eine mit einem Glashütchen bedeckte Glasflasche für den in Xylol gelösten Kanadabalsam, sodass derselbe nicht verdunsten kann und dergl. mehr.

Von Metallinstrumenten sind Scheren, gerade und gebogene verschiedener Grösse, Messer, am besten Skalpelle, Pinzetten verschiedener Grösse stets vorrätig zu halten. Ebenso leichtgebogene Spatel, welche nicht zu klein sein dürfen; dieselben sind aus Platinblech, billiger und ebenso gut aus Neusilber, hergestellt. Eine grosse Reihe von Präpariernadeln müssen stets zur Hand sein. Sie dürfen keinerlei Spitzen besitzen; um sie zu glätten, nimmt man am besten Schmiergelpapier. Vorteilhaft sind die Stahlnadeln, welche in einen Holzstiel eingeschraubt und somit auswechselbar sind. Sehr leicht kann

man sich aus Häkelnadeln mit Holzgriffen besonders billige Präpariernadeln herstellen, indem man die vordere Spitze abschleift. Das vorderste Ende der Präpariernadel biegt man sich am besten etwas um.

Beim Arbeiten in bestimmten Lösungen, besonders Metallösungen, kann man natürlich Metallpräpariernadeln nicht brauchen. Man arbeitet hier mit Glasnadeln, welche man sich aus dünnen Glasstäben leicht herstellt, indem man einen solchen in der Mitte über dem Bunsenbrenner erhitzt, auszieht und in der Mitte abbricht, sodass zwei Glasnadeln resultieren. Auch Platinnadeln sind hier sehr praktisch.

Des weiteren ist ein feiner Haarpinsel vonnöten.

Für Deckglastrockenpräparate, sowie für Objektträgertrockenpräparate (Sputum auf Tuberkelbazillen) sind die sogenannten Cornetschen Pinzetten zu empfehlen.

Filtrierpapier, zum Teil schon handlich zugeschnitten, ziemlich wenig gekörnt, muss in grösseren Massen vorhanden sein.

Zum Beschreiben von Gläsern, Objektträgern etc. dienen die sogenannten Fettfarbstifte oder die Glastinte (angegeben von Unna). Bestreicht man sich das Glas mit dicker Lösung von Kanadabalsam (in Xylol) und lässt eintrocknen, so kann man auch mit gewöhnlicher Schreibtinte darauf schreiben.

Fertige Objektträger versieht man besser zur Bezeichnung mit Papieretiketten oder aufklebbaren dicken Pappdeckeln, welche man beschreibt; letztere haben den Vorzug, dass, wenn Objektträger aufeinander liegen, ein Spalt zwischen ihnen bleibt, sodass sie nicht aneinander ankleben können.

In dem Laboratorium muss fliessendes Wasser zur Verfügung stehen. Sollen Stücke lange Zeit in fliessendem Wasser gewässert werden, so sind, um ihr Wegschwimmen aus dem Glas zu verhüten, allerhand Apparate konstruiert worden. Einfach ist es z. B., ein kleines Metallkästchen aus einem unteren Teil und einem darüber gesetzten oberen Teil zu verwenden, welches, allseitig reichlich perforiert, dem Wasser freien Durchlauf lässt, während die Gewebsstückchen durch die Löcher nicht entweichen können.

Destilliertes Wasser soll in gut verschlossenen Gefässen aufbewahrt werden.

Auf den Arbeitstisch legt man Filtrierpapier; weit besser aber ist es, den Tisch mit einer dicken Glasplatte zu versehen. Da man manche Objekte besser auf dunklem Grunde (z. B. Aufhellung in Xylol), andere besser auf hellem Grunde erkennt, legt man am besten an einer Stelle unter das Glas schwarzes Papier, sodass hier das Glas schwarz erscheint.

Die nötigen Reagentien, Farbflüssigkeiten etc. werden an den betreffenden Stellen dieses Buches angegeben werden.

Kapitel II.

Untersuchung frischer Präparate.

Diese einfachste Methode hat den Vorteil sehr schneller Orientierung, zumal zu sofort zu stellender Diagnose, und den weiteren Vorteil, manches zu zeigen, was eingebettete Präparate nicht aufweisen, da die Gewebe bei der einfachen Untersuchung am frischen Objekt naturgemäß am wenigsten verändert werden. Hierzu gehören bestimmte Pigmente, die sogenannte trübe Schwellung etc. Besonders indiziert ist auch die frische Untersuchung naturgemäß, wenn noch lebende Zellen bezw. einzellige Mikroorganismen auf Lebenserscheinungen hin, wie Bewegung oder Flimmerung, untersucht werden sollen. Andererseits sind feinere Übersichtsschnitte, welche die Struktur in ihren gegenseitigen Verhältnissen und ihren natürlichen Lagen aufdecken, am frischen Präparat nicht ausführbar, und dies ist auch für viele andere Untersuchungen, wo es sich um die Erkennung feinerer Details handelt, ungenügend. Zudem bietet diese Methode, besonders dem Anfänger oft viel grössere Schwierigkeiten als Härtung, feines Schneiden und Färben der Präparate, wonach dann die Strukturen viel übersichtlicher sind.

Hieraus ergibt sich die Bedeutung und die Beschränkung der frischen Untersuchung. Sie soll möglichst geübt und fast stets vor dem Härten der Objekte vorgenommen werden, wird aber in der Regel die komplizierteren Verfahren nicht überflüssig machen.

Die Untersuchung wird vorgenommen gewöhnlich in einer Zusatzflüssigkeit, welche mit dem zu untersuchenden Objekt zwischen Objektträger und Deckgläschen gebracht wird. Hierbei können wir einmal die allgemeinen indifferenten Untersuchungsmedien und sodann die zu besonderen Zwecken zu verwendenden Reagentien, welche spezielle Strukturbestandteile durch Hervorheben oder Verschwindenlassen markieren sollen, unterscheiden.

Für alle diese Flüssigkeiten ist zu bemerken, dass man stets nur einen kleinen Tropfen verwenden soll, welcher gerade genügt, um den Kapillarspalt zwischen Objektträger und Deckgläschen zu füllen. Das

Deckgläschen darf nicht schwimmen, sonst würde eine störende Bewegung eintreten, und event. würde das Deckgläschen ganz wegschwimmen. Auch würde die Flüssigkeit auf die Oberfläche des Deckgläschens austreten und bei Berührung mit der Linse das Bild trüben und event. der Linse schaden. Andererseits soll man auch nicht auf das Deckgläschen und somit die darunter liegende die Gewebspartikel enthaltende Flüssigkeit Druck ausüben.

Als indifferente Untersuchungsflüssigkeit kommt in erster Linie die physiologische Kochsalzlösung in Betracht, welche wegen ihrer Isotonie das Aufquellen der Gewebe möglichst hintanhält. Man verwendet die für Warmblüterblutserum isotonische Kochsalzlösung von 0,9 %, für Kaltblüter eine solche von 0,6 %. Man sterilisiert die Kochsalzlösung am besten durch Kochen. Für ganz feine Untersuchungen verwendet man besser sterilisiertes Blutserum, Hydrocelen-, Ascitesflüssigkeiten oder dergl. Oder man setzt 9 Teilen der Kochsalzlösung einen Teil Hühnereiweiss zu. In der Regel soll in einer solchen indifferenten Flüssigkeit die Untersuchung zuerst vorgenommen werden, sodann erst lässt man für besondere Zwecke spezielle Reagentien einwirken und zwar am besten in der Art, dass man mittels eines Glasstabes einen Tropfen derselben an den einen Rand des Deckgläschens bringt, und indem man nun ein Stückchen Filtrierpapier an den entgegengesetzten Rand des Deckgläschens anlegt, die indifferente Flüssigkeit, in welcher das Präparat bisher lag, ab- und somit das neue Reagens, welches jetzt in den Kapillarspalt zwischen Objektträger und Deckgläschen eintritt, nachsaugt. Man kann auch das Verschwinden der alten Flüssigkeit und das Nachziehen der neuen unter dem Mikroskop verfolgen und somit die Veränderungen, welche an dem Präparat in dem Reagens vor sich gehen, direkt sehen.

Von solchen Reagentien kommen insbesondere folgende in Betracht:

1. Essigsäure; diese lässt die Kerne etwas schrumpfen, wodurch sie deutlicher werden. Sie lässt Bindegewebe quellen und macht es somit durchsichtiger, greift jedoch elastisches Fasergewebe nicht an, sodass sie diese beiden Gewebe deutlich unterscheiden lässt. Die Essigsäure löst die Eiweisskörnchen der trüben Schwellung, Fett hingegen nicht, und lässt so ebenfalls beide unterscheiden. Auch Bakterien werden von ihr nicht angegriffen Man verwendet gewöhnlich eine 1—5 prozentige Lösung, zuweilen auch eine konzentriertere, letztere, wenn man die Essigsäure durch die schon unter dem Deckgläschen befindliche Flüssigkeit sich verdünnen lässt. Zusatz einiger Tropfen einer Farbe, z. B. Fuchsin, macht die Kerne noch deutlicher, indem sie dieselben färbt. Man stellt die Fuchsin-Essigsäure her, indem man zu der Essigsäure soviel Fuchsin hinzufügt, bis eine kräftig rote Farbe resultiert.

2. Kalilauge (1—3%); diese lässt elastische Fasern, Pigment, Fett, Kalk, Amyloid und Bakterien unverändert, während sie die meisten anderen Gewebe zerstört. Sie dient somit zur Erkennung der erstgenannten Substanzen.

3. Osmiumsäure (1%), sowie event. die noch später zu beschreibende Lösung von „Sudan III“ und Scharlach-R. Hierbei färben sich vor allem die Fettkörnchen und -tröpfchen und zwar mit der Osmiumsäure schwarz, mit den zuletzt genannten Farben rot und treten somit sehr deutlich hervor.

4. Mineralsäuren. Salzsäure in 3—5%iger Lösung dient zum Erkennen von Verkalkungen. In ihr löst sich der kohlensaure Kalk, indem Kohlensäure frei wird und in Form von Gasbläschen in die Erscheinung tritt. Phosphorsauren Kalk löst sie ebenfalls, naturgemäß ohne die Bläschen. Oder man verwendet Schwefelsäure, welche ebenfalls Kalk löst, wobei sich schwefelsaure Kalkkristalle (Gips) bilden.

5. Jodlösung, am besten mit Wasser verdünnte Lugolsche Lösung (ein Teil Lugolsche Lösung, 3—4 Teile Wasser). Ähnlich wie die Essigsäure hebt sie die Kernkonturen hervor und verbindet hiermit den besonderen Vorteil einer spezifischen Reaktion für Amyloid. Während die übrigen Gewebe durch die Jodlösung gelb gefärbt werden, tritt die Amyloidsubstanz mahagonibraun hervor (siehe unter Amyloid). Ist Glykogen vorhanden und nicht gelöst, so färbt es sich ebenfalls braun (siehe unter Glykogen).

6. Farblösungen, und zwar kommen hier insbesondere Fuchsin, Neutralrot, Methylenblau, Methylgrün in Betracht und werden am besten in 1%igen Lösungen in Wasser oder noch besser in physiologischer Kochsalzlösung verwandt. Sie färben besonders die Kerne, sowie etwa vorhandene Bakterien in den betreffenden Farben und werden somit auch am frischen Präparat mit Vorteil angewendet. Sie werden ebenfalls in der oben beschriebenen Weise, indem die Farbflüssigkeiten an die eine Seite des Deckgläschens gebracht, ein Stückchen Filtrierpapier an die andere Seite angelegt wird, verwandt.

Soll zur längeren Beobachtung des Objekts oder zwecks Aufhebens des Präparates eine Verdunstung der Flüssigkeit, in welcher die Untersuchung vorgenommen wird, hintangehalten werden, so muss man das Deckgläschen, um es auf dem Objektträger luftdicht abzuschliessen, aussen umranden, so, dass die Umrandungssubstanz auch noch etwas den Objektträger bedeckt, und zwar verwendet man hierzu Vaselin oder Wachs bezw. geschmolzenes Paraffin oder auch Lack. Objektträger und Deckgläschen, welche damit bekleidet werden, müssen vorher sorgfältig getrocknet werden. Man kann, um einen Druck zu vermeiden, zwischen Objektträger und Deckgläschen am Rande kleine Splitter eines zerbrochenen Deckgläschens einschalten.

Ausser der gewöhnlichen Methode des direkten Auflegens des Deckgläschens auf den Objektträger, der mit dem Objekt in irgend einer Flüssigkeit versehen ist, kann man, soweit es sich um lose Partikel, nicht um Schnitte handelt, auch noch eine von folgenden Methoden anwenden.

Entweder man nimmt eine Untersuchung im sogenannten hängenden Tropfen vor; hierbei verwendet man einen sogenannten hohl geschliffenen Objektträger, dessen Ausschliff mit Vaselin umrandet ist, bringt auf die Mitte eines Deckgläschens einen kleinen Tropfen Flüssigkeit, event. mit zu untersuchendem Material beschickt, und legt nun das Deckgläschen, indem man es schnell umdreht, so über den Ausschliff des Objektträgers — oder umgekehrt den Objektträger mit seinem Ausschliff so über das auf dem Tisch liegende Deckgläschen —, dass das Deckgläschen durch das Vaselin luftdicht abgeschlossen wird. Bei der Untersuchung stellt man sich am besten zunächst mit dem Mikroskop den Rand des Tropfens ein.

Die zweite Methode besteht darin, dass man auf ein Deckgläschen die Flüssigkeit mit dem zu untersuchenden Material ausstreicht, die Flüssigkeit eintrocknen lässt und nun das Deckgläschen als sogenanntes Deckglastrockenpräparat zur Färbung etc. weiter behandelt. Diese Methode wird hauptsächlich bei der Untersuchung auf Bakterien und Blutelemente verwandt. (Wegen aller Details siehe dort.)

Bei der Untersuchung von Bakterien im frischen Präparat darf man nie vergessen, dass Objektträger und Deckgläschen sorgfältig gereinigt, am besten ungebraucht sein müssen, damit nicht Bakterien, welche noch von früher am Glas sitzen, falsche Resultate vortäuschen. Ebenso muss man daran denken, dass in den Zusatzflüssigkeiten, besonders auch in der Kochsalzlösung, sich oft Bakterien entwickeln und die Flüssigkeiten, event. durch Kochen, vorher sterilisiert werden müssen.

Bei dem Studium lebender Zellen und Mikroorganismen, insbesondere auf Bewegungen, ist oft der schon erwähnte heizbare Objekttisch nötig.

Ein weiteres Feld der Untersuchung am frischen Objekt ist die sogenannte vitale bzw. supravitale Färbung. Sie hat ihre Hauptanwendung in denjenigen Fällen, in welchen man bei Darstellung bestimmter Strukturen mittels Färbungen am fixierten Objekt nicht mit Bestimmtheit ausschliessen kann, ob es sich hier nicht um Kunstprodukte handelt. Treten am frischen Objekt dieselben Bestandteile gefärbt hervor, so können solche Kunstprodukte naturgemäß nicht vorliegen. Es ist nun eine Tatsache, dass es Farbstoffe gibt, welche von bestimmten Strukturen, Bestandteile von Zellen in lebendem bzw. überlebendem Zustand aufgenommen werden. So kann man Körnchen und bestimmte Anordnungen, welche also sicher schon in der Zelle präformiert sind, deutlich hervorheben. Sie tragen zu unserer Kenntnis von der Organisation der Zellen wesentlich bei. Als solche Farben kommen vor allem Methylenblaulösung nach Ehrlich, sowie solche von Bismarckbraun, Neutralrot und ev. Nilblau in Betracht. Die Lösungen müssen ausserordentlich verdünnt sein, besonders solche von Methylenblau (z. B. 1 : 100 000). Man nimmt die Färbung am besten im Dunkeln vor.

Zur Einübung der Methode werden am besten Amphibienlarven (nach Fischel) oder die Zunge eines kurarisierten Frosches (nach Arnold) verwandt. Doch kann man auch am frisch herausgeschnittenen Gewebe die Reaktion verfolgen. Hierbei sind die Kerne (wenigstens als Regel) ungefärbt und gerade als helle farbkörnchenfreie Flecken zu erkennen, während der Protoplasmaleib die mit der betreffenden Farbe gefärbten Körnchen in grosser Menge erkennen lässt. Arnold empfiehlt als Beobachtungsobjekt auch die Cornea des Frosches. Bei höheren Tieren ist die Untersuchung naturgemäß schwieriger, beim Menschen nur bei sehr schneller Sektion möglich. Bei dieser vitalen bzw. supravitalen Färbung ist ein Verfahren von Arnold empfehlenswert. Man schneidet mittels des Mikrotoms feine Blättchen von getrocknetem Holundermark (fertig zu beziehen durch Jung, Heidelberg) und sterilisiert sie durch Kochen in 0,7 % Kochsalzlösung. Nun legt man sie auf ein Deckgläschen (damit das Holunderblättchen am Deckgläschen haftet, bringt man etwas Vaselin zwischen beide), beschickt das nach oben liegende Holundermarkblättchen mit einem Tropfen einer der genannten Farblösungen (Neutralrot oder Methylenblau in sehr verdünnter Lösung) mit den zu untersuchenden Zellen und legt nun Deckgläschen plus Holundermarkblättchen auf einen hohl geschliffenen Objektträger.

Solange die Gewebe in überlebendem Zustand sind, färben sich die Protoplasmagranula blau bzw. rot etc.; der Kern ist ungefärbt (gerade das beste Kriterium einer gelungenen vitalen Färbung). Sobald die Gewebe absterben, wird der Kern gefärbt; die Granulafärbung verschwindet jetzt. Die vitale bzw. supravitale Methode hat besondere Anwendung im Nervensystem (s. dort) gefunden.

Dass ähnlich wie Holundermarkblättchen Glaskammern und dergl. auch in Tiere eingebracht werden, um nach ihrer Entnahme die Zellen, welche in die Kammern eingedrungen sind, frisch oder auch nach Härtung untersuchen zu können, kann hier nur erwähnt werden.

Die frische Untersuchung kann vorgenommen werden:

1. An Flüssigkeiten.
2. An festen Objekten, d. h. Gewebsstückchen.

1. Bei Flüssigkeiten ist die frische Untersuchung naturgemäß die souveräne und fast allein anzuwendende. Man bringt einfach einen Tropfen der Flüssigkeit auf einen Objektträger, bedeckt ihn mit dem Deckgläschen und untersucht mikroskopisch. Ist die Flüssigkeit reich an Zellelementen, so verdünnt man sie mit physiologischer Kochsalzlösung. Ist sie arm an Zellelementen oder sonstigen Gebilden, auf die untersucht werden soll, z. B. Harnzylinder, so lässt man sich die Flüssigkeit im Spitzglas sedimentieren, oder besser man zentrifugiert und hebert sodann das Sediment mit einer Pipette vom Boden des Glases ab und untersucht dasselbe. Auch zur leichteren Sichtbarmachung von Zellbestandteilen in Flüssigkeiten ist es oft sehr vorteilhaft, einen Tropfen der unten genannten Farbflüssigkeiten, wie bereits erwähnt, in der Art zuzusetzen, dass man einen Tropfen an den einen Rand des Deckgläschens bringt, an dem entgegengesetzten mittels Filtrierpapier ab- und nachsaugt.

2. Für feste Objekte stehen mehrere Methoden zur Verfügung:

I. Entweder man verzichtet auf den Zusammenhang der Gewebe und isoliert die Zellen auf folgende Methoden:

A. Man verfertigt sogenannte Abstrichpräparate, d. h. man streicht mit einem trockenen Skalpell über die frische Schnittfläche des Gewebsstückchens und bringt die dem Messer anhaftenden Zellen in einen auf dem Objektträger befindlichen Tropfen physiologischer Kochsalzlösung (zuviel Blut ist hierbei zu vermeiden). Besonders bei weichen Organen, wie Milz, Leber, oder weichen Geschwülsten eignet sich diese Methode, um etwa gewisse Zustände von Zellen oder die Art der Zellbestandteile einer Geschwulst schnell festzustellen.

B. Quetschpräparate. Man zerquetscht einen kleinen Gewebspartikel zwischen zwei Deckgläschen oder besser zwischen Objektträger und Deckgläschen; für Zentralnervensubstanz event. geeignet, in der Regel aber nicht zu empfehlen.

C. Zupfpräparate. Man entnimmt von festeren Geweben, z. B. Muskelgewebe, Nerven, Bindegewebe etc., ein kleines Stückchen, bringt es in einem Tropfen Kochsalzlösung oder in einer anderen zu verwendenden Flüssigkeit auf den Objektträger und zerzupft es mit scharfen Stahlnadeln so lange, bis mit blossem Auge keine grösseren Teile mehr zu erkennen sind, wobei man mit Vorteil eine Stativpräparierlupe verwenden kann. Zur Erleichterung der Isolation durch das Zerzupfen wendet man hierbei meist sogenannte Mazerationsflüssigkeiten an, welche die Kittsubstanzen erweichen; am besten verwendet man hierzu möglichst frische Gewebe und nimmt die Mazeration in einem kleinen Uhrschälchen oder Glasblockschälchen vor, wobei die Flüssigkeit das Volumen des Stückchens nicht zu sehr übersteigen soll, damit, da die Mazerationsflüssigkeiten zumeist lange einwirken müssen, wirklich eine Mazeration, nicht eine Härtung bewirkt wird. Es ist empfehlenswert, in verschieden starken Lösungen und nach kürzerer und längerer Einwirkung Untersuchungen vorzunehmen.

Als solche Mazerationsflüssigkeiten kommen in Betracht:

1. Ranviers 33%iger Alkohol (Drittelalkohol); er soll 24 Stunden lang einwirken.

2. Chromsäure und deren Salze, auch Müllersche Flüssigkeit. In der Regel verwendet man ganz dünne Lösungen von Chromsäure, z. B. solche von 0.02%. Man mazeriert 24 Stunden lang. Kaliumbichromicumlösungen verwendet man in einer Konzentration von 0,1—2% und mazeriert 2—4 Tage. Die Chromsäure und ihre Salze werden vor allem an Präparaten des Nervensystems verwendet.

3. 33%ige Kalilauge. Sie mazeriert in einer halben bis einer Stunde. Die Gewebe müssen auch zur mikroskopischen Untersuchung auf dem Objektträger in dieselbe Lösung gebracht werden, da Wasserzusatz, also verdünntere Kalilauge, die Zellen lösen würde; oder man muss, um in Wasser bezw. Kochsalzlösung untersuchen zu können, die Kalilauge zuvor mit 50%iger Essigsäure neutralisieren. Die Kalilauge wird vor allem zur Isolation glatter Muskelfasern verwandt.

4. Jodjodkaliumlösung nach Arnold. 10 Teile einer 10%igen Jodkaliumlösung werden mit 5—10 Tropfen einer Lösung von 5 gr Jod und 10 gr Jodkalium in 100 ccm Wasser gemischt. Wird die Flüssigkeit nach einiger Zeit farbloser, so fügt man wieder einen oder mehrere Tropfen der Jodjodkaliumlösung zu. In der Regel mazeriert man 12 Stunden oder einen Tag; oft sind auch mehrere Tage nötig.

5. Verdauungsmethode der Gewebe mittels Magen- oder Pankreassaft bei 37°. Am meisten kommt hier Pepsin- und besonders Trypsinverdauung (meist künstliches Pancreatinum siccum u. dergl.) in Betracht (am besten in schwach alkalischer Lösung). Das Trypsin löst Eiweisskörper, Mucin, elastische Fasern. Kollagenes Gewebe. Horngewebe, Fette werden nicht angegriffen. Die Methode ist daher zum Studium des Bindegewebes besonders geeignet (z. B. Methode von Mall, s. unter Bindegewebe). Nach völliger Verdauung werden die Gewebe in fliessendem Wasser gewaschen und dann ungefärbt oder nach Zusatz von Farbflüssigkeiten untersucht. Man kann auch in Alkohol gehärtetes Material künstlicher Verdauung aussetzen und einbetten oder erst nach Einbettung Schnitte verdauen lassen (Spalteholz und Hoehl).

II. Schnittpräparate, wobei also die einzelnen Zellen nicht isoliert werden, sodass Übersichtsbilder ermöglicht werden. Man kann solche Präparate herstellen:

A. Mittels der Schere. Mit einer gebogenen Schere trägt man vom mit der linken Hand gespannten Gewebe ein kleines flaches Stückchen ab und bringt es auf den Objektträger in die Untersuchungsflüssigkeit. Sehr geeignet für die Lunge zur Untersuchung auf Fettembolie, für die lamellöse Membran des Echinococcus und dergl.

B. Man verwendet das Rasiermesser (Seite 13), wobei man vorteilhaft das Stückchen Gewebe, wenn es sehr weich ist, in eine harte Substanz, z. B. gehärtete Amyloidleber einklemmt (siehe Kapitel I). Das Messer soll beim Schneiden stets gut angefeuchtet sein. Den mit dem Rasiermesser erzielten Schnitt spült man in ein Gefäss mit physiologischer Kochsalzlösung ab; aus dieser zieht man ihn dann direkt auf den Objektträger mittels einer Präpariernadel auf.

C Man wendet das Doppelmesser an (s. Seite 13). Auch hier werden die Schnitte in physiologische Kochsalzlösung bezw. Wasser gebracht und ebenso, wie eben besprochen, auf den Objektträger aufgezogen.

D. Man verwendet das Gefriermikrotom (s. nächstes Kapitel); hierbei ist nur zu beachten, dass am frischen Präparat naturgemäß mehr wie am gehärteten die Struktur in Mitleidenschaft gezogen wird, (man friere nicht zu stark!) und dass die Schnitte vom frischen Objekt sehr leicht schrumpfen.

Es soll noch erwähnt werden, dass man frische Schnitte auspinseln (man fixiert mit der Nadel den Schnitt auf dem Objektträger und streicht mit dem Pinsel mehrfach darüber) oder ausschütteln kann (in einem mit Wasser gefüllten Gefäss) zur Entfernung der Zellen unter Erhaltung des bindegewebigen Gerüstes. Es wurde dies früher besonders bei Geschwülsten angewandt und ist heute fast ganz obsolet geworden.

Kapitel III.

Gefriermethode.

Diese Methode hat, besonders durch Anwendung der neueren gleich zu beschreibenden Apparate, solche Bedeutung gewonnen, dass ihr ein eigenes Kapitel gewidmet werden soll.

Es gelingt, Schnitte, sei es von frischen Objekten, sei es, was weit mehr anzuraten ist, nach Fixierung besonders in Formol in sehr kurzer Zeit und mit solcher Leichtigkeit herzustellen, dass, zumal die Schnitte dünn sind und leicht selbst komplizierten Färbemethoden ausgesetzt werden können, diese Methode überaus zu empfehlen ist. Ganz besonders Hervorragendes leistet dieselbe zur schnellen Diagnosestellung bei operativem Probematerial.

Das Verfahren, obwohl es naturgemäß die Gewebe nicht unverändert lässt, ist doch relativ schonend, erhält die meisten Strukturen gut und vermeidet vor allem den stark schrumpfenden Alkohol, welchen die Einbettungsverfahren nicht entbehren können. Hierdurch erscheinen die Schnitte dünner als Schnitte von Einbettungsmaterial von entsprechender Dicke, da infolge der geringeren Schrumpfung in derselben Dicke weniger Zellagen enthalten sind. Des weiteren ist das Gefrierverfahren besonders geeignet, wenn es sich um Stoffe handelt, welche bei der zur Einbettung nötigen Nachbehandlung mit Alkohol in diesem gelöst würden, so besonders zur Untersuchung von Fett und fettähnlichen Substanzen (in Verbindung mit der Färbung mit Sudan III und Scharlach-R., s. Kapitel XII). Auch gibt es gewisse selbst sehr feine Methoden des Zentralnervensystems, so die von Bielschowsky angegebene Silbermethode, welche zumeist gerade nur an Gefrierschnitten (nach Formalinhärtung) gelingen.

Auf der anderen Seite ist das Gefrierverfahren nicht anzuwenden, wenigstens nicht in Verbindung mit Formalinfixierung, bei solchen Stoffen, die, wie das Glykogen, in wässerigen Flüssigkeiten gelöst werden. Des weiteren schlägt die Gefriermethode fehl, wenn das zu untersuchende Material ganz weich ist, oder aus einzelnen Bröckeln besteht, sodass die Schnitte leicht ganz auseinanderfallen, oder wenn

in dem Stück Teile los sind, welche aus den Schnitten herausfallen. Zu den weichen Massen, bei denen die Gefriermethode gewöhnlich versagt, gehören einmal zahlreiche Granulationen und sodann fast stets die Curettements, (Uterusausschabungen) bei welchen, da gerade hier schnelle Diagnose oft sehr wichtig ist, eine schnelle Einbettungsmethode ihre Stelle vertreten muss.

Da aber, von diesen Fällen abgesehen, die Gefriermethode den Vorzug grösster Schnelligkeit mit in der Regel besonders leicht zu erlernender Herstellung sehr guter dünner (man kann leicht 5 μ-Schnitte erreichen) und gut weiter verarbeitbarer Schnitte paart, verdient sie grösstmögliche Anwendung. Für den chirurgisch Arbeitenden ergibt sich ihr Vorzug von selbst; aber auch für das pathologisch-anatomische Laboratorium ist sie überaus geeignet. Die schnelle Einleitung mikroskopischer Untersuchung nach der Sektion hält das Interesse noch besonders wach, erlaubt einen direkten Vergleich und die leichte Auswahl der Stellen, welche makroskopisch aufgefallen sind; sie gestattet weit mehr Stücke zu schneiden, als wenn alles den komplizierten Einbettungsverfahren unterworfen werden muss. So ermöglicht die Gefriermethode fast stets nicht nur schnelle Diagnosenstellung, sondern auch Erkennung von Details und reduziert die Zahl derjenigen Stücke — und trifft ihre richtige Auswahl —, welche eingebettet werden müssen.

Zu dem Gefrierverfahren sind Apparate, welche einmal zum Gefrieren der Objekte und andererseits zur Herstellung feiner Schnitte dienen, notwendig. Man bezeichnet sie als Gefriermikrotome.

Man kann die meisten grösseren Mikrotome in solche verwandeln, doch sind besondere Gefriermikrotome vorzuziehen. Hier stand früher zur Erzeugung von Kälte fast nur der Äther zur Verfügung. Am gebräuchlichsten war das kleine, sehr billige Studenten-Mikrotom A von Jung-Heidelberg, welches ausser Gefrierschnitten auch die Herstellung von Paraffinschnitten, jedoch nicht von Celloidinschnitten, gestattete und in einer etwas teureren Ausführung auch eine automatische Einstellung für die Hebung des Blockes besitzt.

Ein neueres Modell B von Jung-Heidelberg lässt ausser Gefrierschnitten und Paraffinschnitten auch die Herstellung von Schnitten von Celloidinblöcken zu.

Bei diesen Äthermikrotomen wird ein Ätherspray hervorgebracht, indem man einen Gummiball drückt und der versprayte Äther unter die Oberfläche einer Metallplatte geführt wird, an deren Oberfläche man das zu frierende Objekt andrückt. Die Ätherkälteerzeugung ist jedoch keine hochgradige, versagt besonders im Sommer oft und vor allem verstopft sich die Äthertube häufig; auch die das Objekt haltende Metallplatte ist ziemlich klein, und es sind nur kleine, nicht recht ausnutzbare Messer anwendbar.

Besser wie das Ätherverfahren ist die Anwendung von Äthylchlorid. Es wird aus den kleinen Tuben, in welchen es bezogen wird, direkt unter die Metallplatte gesprayt; jedoch ist das Äthylchlorid sehr teuer.

Ausserordentlich vorzuziehen und fast alle die genannten Nachteile vermeidend sind die Gefrierapparate, welche zur Gefriervorrichtung flüssige Kohlensäure verwenden. Erst seit ihrer Einführung hat das Gefrierverfahren seine hohe Brauchbarkeit und allgemeine Einführung erlangt.

Sind diese Instrumente auch teurer wie die kleinen Ätherspraymikrotome, so sind sie immerhin relativ billig, stabil gebaut, und im Gebrauch ist die flüssige Kohlensäure weit billiger als der reine Äther, der dort benötigt wird. Die flüssige Kohlensäure ist überall leicht zu erhalten; sie wird in den bekannten grossen Bomben geliefert und verträgt die bei uns vorkommenden Hitzegrade durchaus gut, doch ist es besser zu vermeiden, den Apparat in nächste Nähe eines Ofens zu stellen oder ihn den Sonnenstrahlen direkt auszusetzen.

Ausserordentlich empfehlenswert ist das zunächst von Gaylord angegebene, sodann von Aschoff modifizierte, von Becker-Sartorius-Göttingen hergestellte Gefriermikrotom. Die die flüssige Kohlensäure enthaltende eiserne Flasche wird mit dem Flaschenhals und Ventil nach abwärts gerichtet und am besten in einen eisernen Dreifuss, welcher mehrere eiserne Ringe zur Aufnahme der Flaschen trägt, eingelassen; so wird die Kohlensäurebombe neben dem Arbeitstisch aufgestellt. Von ihr führt ein metallener Spiralschlauch zum Gefrierapparat, an welchem er befestigt wird. Der Gefrierapparat selbst wird an den Arbeitstisch angeschraubt. Er besteht aus einer mit seitlichen Löchern versehenen Gefrierkammer, in welche die Kohlensäure einströmt und welche nach oben durch die Metallplatte, auf welche das zu frierende Objekt aufgelegt wird, ihren Abschluss findet. Eine weitere Vorrichtung gestattet es, die Schnittdicke zu regulieren, indem die Gefrierkammer mit ihrer Metallplatte nach jedem Schnitt stets um die Mikrenzahl automatisch gehoben wird, auf welche man eingestellt hat. Das Messer wird durch einen Hebel zum Schneiden nach vorn geleitet und dann stets wieder zurückgebracht, wobei die automatische Hebevorrichtung der Objektplatte in Funktion tritt. Das Messer soll in den es haltenden Schrauben fest fixiert sein.

Beim Gebrauch muss man zunächst (während das Messer vorne steht) die das Objekt tragende Platte in die gewünschte Höhe bringen und auf die gewünschte Mikrenzahl einstellen. Dann wird das Messer zurückgeschoben und nun das Objekt auf die Platte aufgelegt. Man öffnet nun das am untersten Ende der eisernen Flasche angebrachte Ausströmventil. Die Kohlensäure kann jetzt bis zu dem Apparat

einströmen. Durch wiederholtes kurzes Öffnen des am Apparat selbst angebrachten Hebelventils gestattet man der Kohlensäure bis zu der Platte, auf welcher das Objekt ruht, auszuströmen und diese durch die infolge der plötzlichen Ausdehnung der Kohlensäure entstehende Kälte abzukühlen; so gelangt das Objekt in den Gefrierzustand und kann geschnitten werden. Wenn die flüssige Kohlensäure zu viel Wasser enthält, kommt es leicht zum Einfrieren der Ventile und des Rohres, und somit versagt der Apparat. Da dies häufig am Anfang, wenn eine frische Flasche mit Kohlensäure genommen wird, der Fall ist, lässt man die Kohlensäureflasche mit nach abwärts gesenktem Halse, also so wie sie in den Dreifuss eingelassen ist, zunächst einige Stunden stehen, ohne den Verbindungsschlauch anzuschrauben; wenn man jetzt das untere Ventil der eisernen Flasche öffnet, gelangt das Wasser mit der Kohlensäure direkt nach aussen. Jetzt kann man den Schlauch anschrauben, und die Gefriervorrichtung funktioniert. Von Zeit zu Zeit muss der Apparat mit seinem Schlauch naturgemäß gereinigt werden.

Das Objekt wird auf die Platte leicht angedrückt, damit es mit seiner Unterfläche der Metallplatte glatt anliegt. Man wähle nicht zu hohe bezw. dicke Objekte, damit sie leicht durchfrieren, oder wenn man höhere Objekte nimmt, so gefriere man nur den untersten Teil derselben und schneide den oberen, da wo er gerade noch leicht gefroren ist, mit einem Skalpell oder mit dem Mikrotommesser selbst ab.

Das zu frierende Stück muss gut durchgefroren sein, darf aber nicht zu hart sein, da sonst das Messer keine Schnitte, sondern nur Splitter herstellen kann und selbst durch entstehende Scharten leidet. Ist das Objekt zu stark gefroren, so warte man einige Zeit oder lasse das Objekt durch Betupfen mit dem Finger etwas auftauen. Andererseits dürfen die Objekte auch nicht zu wenig durchgefroren oder zu stark wieder aufgetaut sein zum Schneiden, da sonst die Gewebe zu sehr zerstört werden und das Schneiden erschwert ist. Das Tauen geht bei den Kohlensäure-Gefriermikrotomen nicht schnell vor sich, und die Zeit reicht meist vollständig aus, um sehr zahlreiche Schnitte herzustellen. Sollte trotzdem zu stark aufgetaut sein, so genügt ein ein- bis zweimaliges Heben des Hebelventils am Gefrierapparat, um Nachgefrieren herbeizuführen. Das Messer wird trocken gehalten. Die Schnitte bringt man von dem Messer mittels eines feinen Pinsels oder am besten, indem man mit einem Finger, z. B. dem kleinen Finger, den Schnitt gegen die Schneide zu abstreift, in eine Flüssigkeit, in welcher sich der Schnitt ausbreitet.

Man kann das Gefrierverfahren, wie bereits im vorigen Kapitel erwähnt, am frischen Objekt anwenden. Dann überträgt man die Schnitte in physiologische Kochsalzlösung oder in Serum (abgekochtes Wasser oder Kochsalzlösung sowie 50%iger Alkohol hat den Vorteil, die Luftblasen

aus den Schnitten zu entfernen) und untersucht in der im vorigen Kapitel für die frischen Präparate angegebenen Weise, oder auch man färbt sie. Bei diesen komplizierteren Prozeduren merkt man nun, dass die vom frischen Präparat hergestellten Schnitte meist ausserordentlich klebrig sind, zusammenschrumpfen und sich zusammenrollen. Man kann dies dadurch bis zu einem gewissen Grade vermeiden, dass man die Schnitte in stärkeren Alkohol überträgt und sodann plötzlich in Wasser, wobei sich infolge der Diffusionsströme die Schnitte besser ausbreiten. Oft ist es vorteilhaft, sie dann auf den Objektträger direkt aufzuziehen, in der unten zu beschreibenden Weise anzukleben und sodann erst zu färben. Sonst ist es auch anzuraten, die Schnitte auf kurze Zeit in eine Formollösung zu legen und dann evtl. noch in mittleren Alkohol, wonach sie leichter färbbar sind. Auch wird man stets beobachten, dass der Prozess des Gefrierens am ungehärteten Objekt viel grössere Strukturveränderungen und Verschiebungen hervorruft als am gehärteten.

Ist also das Gefrieren ganz frischer Objekte indiziert, wo es sich um sofortige Diagnosenstellung handelt, z. B. während einer Operation, so wird überall, wo es möglich ist, erst ein Fixieren und Härten, wenn auch nur auf einige Stunden, vorzuziehen sein. Hierzu eignet sich nun ganz hervorragend das Formol. (Wegen aller Details siehe das nächste Kapitel.)

Man verwendet 10 %iges Formol und härtet hierin 1—2 Stunden oder wie bei Sektionsmaterial, welches weniger Eile hat, zumeist 24 Stunden. In Ausnahmefällen, wenn nur ganz kurze Zeit zur Verfügung steht, kann man auch stärkere Formollösung (20—25 %ige) verwenden. Das Formol wirkt schneller ein, wenn man es mit dem Gewebsstück in den Brütofen bei 37 Grad einstellt. Wenn das Gewebe in Formol fixiert und gehärtet ist, so erzielt man vor allem, wenn die Flüssigkeit längere Zeit einwirken konnte, dünne und sich leicht färbende nicht klebrige und sich nicht kräuselnde Schnitte. Auch sind dann die Zellen meist sehr gut erhalten. Man kann die Stücke direkt aus dem Formol gefrieren, besser aber man wäscht sie vorher kurz in Wasser oder in physiologischer Kochsalzlösung aus; auch ist Gefrieren und Schneiden in dünner Gummi- und Syruplösung empfohlen worden. Die Schnitte von fixiertem Material bringt man in Wasser oder besser in 70 %igen Alkohol, wonach die Schnitte sich besser färben lassen, besonders wenn man sie im Alkohol vor dem Färben einige Zeit liegen lässt. Sollte das nicht der Fall sein, so legt man sie auf kurze Zeit noch vor der Färbung in stärkeren (96 %igen) Alkohol ein. (Natürlich nicht anwendbar bei Präparaten, welche auf Fett untersucht werden sollen.)

Man muss sich nur hüten, irgend welchen Alkohol auf das gefrorene Objekt, auf die Platte oder auf das Messer beim Schneiden zu bringen,

da sonst leicht Auftauung eintritt. Wie schon erwähnt sind nach dem beschriebenen Verfahren fast alle speziellen Färbungen, manche sogar fast nur bei ihm anwendbar. Doch gibt es Färbungsmethoden, welche infolge des Formols schwerer gelingen und bei welchen dann bestimmte Manipulationen zuweilen benötigt werden, z. B. Weigerts Fibrinmethode (s. dort).

Fast ebenso gut wie das Formol eignet sich in Verbindung mit dem Gefrierverfahren die Härtung im Orthschen Gemisch (d. h. Formol und Müllersche Flüssigkeit, s. nächstes Kapitel). Man fixiert in der Orthschen Flüssigkeit 12—24 Stunden, und muss dann vor dem Gefrieren kurz wässern. Auch nach Härtung in Müllerscher Flüssigkeit, Sublimatlösung, Zenkerscher Lösung kann man auf dem Gefriermikrotom schneiden, doch müssen derartig gehärtete Objekte (besonders nach Sublimathärtung) gut gewässert werden. Präparate aus Alkohol können nicht direkt gefroren werden, da der Gefrierpunkt des Alkohols ein zu niedriger ist. Man muss hierbei erst 24 Stunden in fliessendem Wasser wässern (oder schneller in warmem Wasser), oder besser man legt die Stücke vor dem Gefrieren erst einige Stunden in Formollösung ein. Benda rühmt sogar besonders gute Zellerhaltung, wenn man die Stücke zunächst in Alkohol fixiert, dann in Formol überträgt (die anfangs schwimmenden Stücke sinken, wenn mit Formol durchtränkt, unter), wässert und auf dem Gefriermikrotom schneidet. Ausserordentlich gut schneiden sich Stücke, welche 24 Stunden in Formol fixiert sind, dann 24 Stunden in 96%igen Alkohol eingelegt wurden, dann auf einige Stunden in das Formol zurückgebracht und nunmehr geschnitten wurden (Hedinger). Stücke, welche aus der Kaiserlingschen Lösung (letzte Lösung derselben s. Kapitel IV) stammen, müssen auch erst ausgewässert oder besser vor dem Schneiden auf dem Gefriermikrotom nochmals in Formol eingelegt werden. Es ist auch (um Eiskristalle am fixierten Objekt zu vermeiden) empfohlen worden, die Stücke in Zuckersyrup und dann in dicken Gummischleim einzulegen und sie in letzterem zu schneiden (Hamilton) bezw. in einem Gemisch von beidem (Gummi 120 gr, dest. Wasser 180 ccm, 5 Teile; Zucker 372 gr, Wasser 37 ccm, 3 Teile) (Cole).

Schnitte, welche leicht auseinanderfallen, klebt man am besten auf den Objektträger auf, um sie auf diesem und mit diesem weiter zu behandeln. Die Schnitte haften oft schon, wenn man sie, auf den Objektträger aufgezogen, mit mehreren Lagen Filtrierpapier abtrocknet. Man muss nur die nächste Flüssigkeit sofort darauf bringen, um ein Trockenliegen des Schnittes unbedingt zu vermeiden. Dieses Verfahren wird z. B. bei der Weigertschen Färbung auf Fibrin oder Bakterien (s. dort) verwandt. Sicherer haften die Schnitte am Objektträger, wenn man sie gewissermaßen in Celloidinschnitte verwandelt. Man zieht zu diesem Zweck den Schnitt auf den Objektträger, welcher

völlig rein und fettfrei sein muss, auf und trocknet ihn wie bei der vorigen Methode durch Anpressen mehrerer Lagen Filtrierpapier auf dem Objektträger. Sodann bringt man auf den Schnitt zur vollständigen Entwässerung einige Tropfen absoluten Alkohol, lässt ihn ablaufen und wiederholt dies mehrfach oder verwendet einmal absoluten Alkohol sodann Äther (Achtung vor Eintrocknen des Schnittes). Auf den vollständig entwässerten Schnitt giesst man sodann ganz verdünnte Celloidinlösung, welche man sich so herstellt, dass man etwas der gewöhnlichen dünnen Celloidinlösung (s. Kapitel VI) mit reichlich absolutem Alkohol, und Äther ana[1]), verdünnt. Man lässt diese dünne Celloidinlösung etwas eintrocknen und durch Senkrechtstellung des Objektträgers sich in dünner Schicht über Schnitt und Objektträger ausbreiten, den Überfluss aber ablaufen; sodann bringt man Objektträger plus Schnitt und zwar schnell bevor das Celloidin eintrocknet in 70 %igen Alkohol, wo man ihn etwa $^1/_2$ Stunde liegen lässt (zum Festwerden des Celloidins) und sodann, wenn es nötig ist, in Wasser. Der so aufgezogene Schnitt haftet gewöhnlich ganz fest am Objektträger; um ein noch festeres Halten zu verursachen, kann man auch den Objektträger vor Aufbringung des Schnittes mit einer Spur Eiweissglyzerin bestreichen, wie es bei dem Aufkleben von Paraffinschnitten (s. dort) üblich ist.

Man kann auch den Schnitt auf den Objektträger folgendermafsen nach Olt aufkleben: Man stellt sich eine Eiweissgelatinemischung in der Weise her, dass man 10 gr Gelatine in 100 ccm Wasser löst, das Eiweiss eines Hühnereies hinzusetzt und 10 Minuten kocht, sodann filtriert und zu dem Filtrat 15 ccm einer 5 %igen Karbolsäurelösung zusetzt. Etwas dieser Mischung, welche leicht erstarrt, wird in warmem Wasser geschmolzen; hier hinein bringt man die Schnitte auf kurze Zeit und fängt sie aus der Lösung auf den Objektträger auf, so zwar, dass nur etwas dieser Flüssigkeit den Schnitt bedecken soll (Absaugen des Überschusses mit Filtrierpapier). Durch Einwirken von (40 %igen) Formalindämpfen in einem gut verschlossenen Gefäss auf eine Stunde und durch Einlegen des Objektträgers mit dem Schnitt in 10 %ige Formalinlösung auf einige Minuten wird die Eiweissgelatinemischung fest. Der Schnitt haftet jetzt am Objektträger. Diese Methode hat vor der zuvor angegebenen den Vorteil, dass der Alkohol vollständig vermieden wird, was vor allem bei der Untersuchung auf Fett und dergl. von Vorteil ist.

Schnitte durch Fettgewebe rollen und kräuseln sich sehr und lassen sich nur sehr schwer ausbreiten. Hier empfiehlt Schmorl, die in Formol fixierten Stücke, die dünn sein sollen, auf etwa $^1/_2$ Stunde in 90 %igen Alkohol, sodann ebenso lange in Äther zu legen, sie dann 10 Minuten in Alkohol liegen zu lassen und schliesslich in Wasser zu bringen, worin sie jetzt gut schneidbar sind. Ähnliches kann man auch am Schnitt anwenden, indem man ihn auf 3 Minuten in 70 %igen Alkohol, sodann auf 5 Minuten in Äther überträgt und ihn dann durch Alkohol in Wasser zurückbringt, wo er sich meist gut ausbreitet. Mit Fettfarbstoffen kann man derartige Schnitte, deren Fett sich im Äther gelöst hat, naturgemäfs nicht mehr färben.

[1]) ana ein Ausdruck, der der pharmakologischen Nomenklatur entnommen in diesem Buche vielfach verwendet wird, bedeutet zu gleichen Teilen.

Kapitel IV.

Fixierung und Härtung.

Wurde im vorhergehenden Kapitel schon in Verbindung mit dem Gefrierapparat von gewissen Fixierungen zur Gewinnung von Schnitten gesprochen, so soll nunmehr im allgemeinen von Fixierung und Härtung wie sie nicht nur für die Gefriermethode, sondern für die feineren Einbettungsmethoden benötigt wird, die Rede sein.

Unter Fixierung verstehen wir ein Verfahren, welches den Zweck hat, die Gewebe in einem Zustand zu erhalten, welcher demjenigen, den sie im Leben oder wenigstens beim Absterben bezw. beim Einlegen in die Fixierungsflüssigkeit hatten, möglichst nahe kommt, so dass dann zum mindesten weitere Zersetzungsvorgänge hintangehalten werden. Besonders also sollen die Bestandteile, auf die es bei der Untersuchung hauptsächlich ankommt, möglichst lebenswahr erhalten bleiben. Hieraus geht schon hervor, dass man das Material so schnell wie möglich nach der Entnahme einlegt: bei operativem Material also sofort nach der Exstirpation, bei Leichenmaterial während der Sektion, welche möglichst bald nach dem Tode ausgeführt werden soll. Die Fixierungsflüssigkeiten wirken durch Koagulation des Eiweisses, d. h. Überführung der Eiweisskörper in Verbindungen, welche sich in Wasser, schwachen Säuren, Farbflüssigkeiten etc. nicht lösen. Es geschieht dies auf physikalischem Wege, z. B. durch Kochen oder — und zwar zumeist — auf chemischem Wege. Nach v. Tellyesniczky fixieren diejenigen Flüssigkeiten am besten, welche zwar sofortigen Tod auch der tieferen Lagen von Zellen herbeiführen, aber doch nur eine langsame Koagulation eintreten lassen und somit Strukturschrumpfungen verhindern. Um in das ganze Gewebe eindringen zu können, müssen die Fixierungsflüssigkeiten also auch die Fähigkeit schneller Diffusion besitzen (v. Tellyesniczky). Aus diesen Gründen muss man, damit die Stücke gänzlich fixiert werden, kleine Stücke wählen und sie in grössere Mengen von Fixierungsflüssigkeit legen, wobei man als allgemeine Regel aufstellen kann, dass man zum mindesten 10 mal so viel Flüssigkeit als das Volumen der Stücke beträgt verwenden soll. Die

Zeitdauer der Einwirkung der Fixierungsflüssigkeit ist je nach der Beschaffenheit derselben verschieden. Damit die Gewebe an allen Seiten mit der Flüssigkeit in Kontakt kommen, legt man am besten Fliesspapier oder Watte auf den Boden des Gefässes, oder man hängt die Gewebsstücke an einem Faden vom oberen Rande des Gefässes auf. Schwimmen die Stücke an der Oberfläche der Flüssigkeit, so deckt man am besten ein Stück Filtrierpapier über sie. Das Eindringen der Flüssigkeit kann durch Wärme am besten im Brutschrank beschleunigt werden.

Alles Erforderliche wird besonders durch einige Mischungen erreicht und zwar hat sich hierbei der Zusatz von Essigsäure als sehr vorteilhaft erwiesen. Dass leicht saure Flüssigkeiten besonders gut fixieren, beruht nach Fischer auf der alkalischen Reaktion der meisten Gewebe und der hierdurch bedingten Beschleunigung der Koagulation in leichtsauren Medien.

In der Regel lässt man die Fixierungsflüssigkeit nicht länger als bis das, was man will, nämlich die Fixierung, erreicht ist, einwirken. Bei einer Reihe von Fixierungsflüssigkeiten muss sodann sorgfältig gewaschen werden; in der Regel geschieht dies mit Wasser, in seltenen Fällen mit Alkohol. Bei gewissen Methoden muss aber das Wässern nach der Fixierungsflüssigkeit unterbleiben, z. B. bei der Weigertschen Markscheidenfärbung, wo die Chromsäure der Fixierungsflüssigkeit gleichzeitig als Beize für die nachfolgenden Färbungen dienen soll.

Sollen ganze Organe fixiert werden, so injiziert man Formol am besten sofort nach dem Tode in die Gefässe oder sonstwie, z. B. zur Fixierung des Auges direkt in dieses.

Die Härtung bezweckt, dem Gewebe eine Konsistenz zu verleihen, welche nötig ist, um dünne Schnitte zu erzielen. Zahlreiche Flüssigkeiten wirken gleichzeitig fixierend und härtend; so z. B. der Alkohol, chromsaure Salze, Formol; aus diesem Grunde werden „Fixierung“ und „Härtung“ bezw. die zu beiden nötigen Flüssigkeiten nicht gesondert, sondern gemeinsam besprochen. Einige Fixierungsmittel härten jedoch so unvollkommen, dass eine Nachhärtung nötig ist. Für diese wird hauptsächlich Alkohol in steigender Konzentration verwandt. Er härtet durch Wasserentziehung und bereitet dadurch gleichzeitig die Gewebe für die Einbettung (s. dort) vor. Zwischen Fixierungs- und Nachhärtungsflüssigkeit muss in der Regel gründlich gewässert werden (s. oben).

Da zur Erhaltung verschiedener Strukturen und für die verschiedenen Färbungen öfters auch verschiedene Fixierungsmittel indiziert sind, legt man am besten von vorne herein mehrere Stücke in verschiedene Fixierungsflüssigkeiten bezw. Gemische ein.

Wegen aller Details betreffend die theoretischen Betrachtungen und die einzelnen Fixierungsmittel sei auf die vorzüglichen Bücher von Gustav Mann (Phisiological Histology Oxford 1902) und Fischer (Fixierung und Färbung des Protoplasmas, Fischer-Jena 1899) verwiesen.

Von der grossen Masse von Fixierungsflüssigkeiten und -mischungen können wir hier nur diejenigen wiedergeben, welche auf Grund günstiger Resultate allgemein Verwendung finden.

I. Formol.

Formol oder Formalin ist eine 40prozentige Lösung von Formaldehyd (Methanal), d. h. dem Aldehyd des Methans HCOH. Als solches kommt es wegen seiner leichten Zersetzlichkeit in braunen Flaschen in den Handel. Mischt man einen Teil dieser käuflichen Lösung mit 9 Teilen Wasser, so erhält man eine 10prozentige Lösung von Formol oder Formalin, welche andere Autoren im Hinblick darauf, dass sie nur 4% Formaldehydgas enthält als 4prozentige Formollösung bezeichnen. Wir wählen die erstere Bezeichnung als die deswegen richtigere, weil der Formaldehydgehalt etwas schwanken kann und setzen also Formol oder Formalin gleich einer 40prozentigen Formaldehydlösung. Wir sprechen somit bei der obigen Mischung eines Teils des käuflichen Formalins mit 9 Teilen Wasser von 10prozentiger Formol- oder Formalinlösung. Es ist dies die zur Härtung geeignetste Konzentration.

Wenn wir das Formol an erster Stelle erwähnen, so geschieht es nicht, weil es etwa das älteste Fixierungs- und Härtungsmittel ist; es wurde vielmehr erst 1893 von F. Blum in die mikroskopische Technik eingeführt, sondern weil wir es für das zu allgemeinen Zwecken geeignetste Härtungsmittel halten. So hat es denn auch, wenn wir von wenigen Autoren, welche das Formol weniger hoch einschätzen, absehen, die weiteste Verbreitung gefunden. Die meisten ständig Mikroskopierenden werden sich für allgemeine Zwecke ein Fixierungsmittel gewissermaßen „angewöhnen", wenn dies auch nicht für alle Zwecke das beste ist, sodass auch andere daneben gebraucht werden sollen. Zu einem solchen allgemein zu verwendenden eignet sich nun gerade das Formol.

Das Formol ist im allgemeinen zugleich ein Fixations- und Härtungsmittel; seine chemische Wirkung beruht wohl auf einer Methylinierung der Eiweisskörper, mit deren Amidogruppen der Formaldehyd unter Wasserabscheidung zusammentritt (nach Blum).

Das Formol hat folgende Vorteile:

1. Es ist sehr leicht hergestellt und hält sich gut.

2. Es fixiert und härtet gleichzeitig und verändert die Gewebe relativ wenig; es gibt hierbei sowohl allein wie bei Nachhärtung mit Alkohol dem Gewebe eine leicht schneidbare Konsistenz; die Stücke werden elastisch, nicht brüchig, und es treten nur geringe Schrumpfungen ein.

3. Es lässt Fette ungelöst und fixiert sie sehr gut. (Gefriermikrotomschnitte.)

4. Es fixiert auch Blutbestandteile in der Regel gut.

5. Es härtet selbst relativ grosse Stücke von Geweben schneller als irgend eine andere Fixierungsflüssigkeit, und, wenn das Formol öfters gewechselt wird, können die Gewebe in ihm ziemlich lange bleiben, obwohl bei einem längeren Verbleiben, also etwa einen Monat, feinere Strukturen doch angegriffen werden.

6. Es erleichtert schnelles Schneiden auf dem Gefriermikrotom, für das es ja besonders geeignet ist (s. voriges Kapitel) und trägt somit zur schnellen Diagnosenstellung bei.

7. Sollen Gewebsstücke eingebettet werden, so können sie direkt oder nach kurzem Wässern in Alkohol von steigender Konzentration entwässert und dann weiter behandelt werden.

8. Man kann auch andere Beizungs- und Nachhärtungsmethoden, wie sie bei einigen komplizierten Methoden für das Nervensystem vorgeschrieben sind, gut an das Formol angliedern.

9. Das Formol lässt fast alle Färbemethoden zu, besonders die wichtigsten (Schmorl empfiehlt gutes Auswässern, wenn Karminfärbung oder Färbung auf Bakterien angewendet werden soll).

10. Das Formol ist billig.

Andererseits stehen diesen Vorteilen einige Nachteile gegenüber:

1. Das Formol löst wie alle Fixierungs- und Härtungsflüssigkeiten, mit Ausnahme des Alkohols, Glykogen und Harnsäure und kann deswegen, wenn es auf diese ankommt, nicht verwendet werden.

2. Längeres Verweilen in Formol hebt zuweilen die Farbreaktionsfähigkeit auf Amyloid auf. (Bei langer Anwendung anderer Fixierungs- bezw. Härtungsflüssigkeiten, selbst bei langem Verweilen in Alkohol, geht es zuweilen ebenso.)

3. Feinere Zellstrukturen, z. B. Mitosen werden vom Formalin nicht so ideal konserviert wie z. B. von dem Flemmingschen oder Herrmannschen Gemisch (s. unten).

4. Das Formol führt häufig zu feinen braunen Niederschlägen.

Zu ihrer Entfernung empfiehlt Schridde Alkohol-Ammoniaklösung (75 % iger Alkohol 200 Teile, 25 %ige Ammoniaklösung 1 Teil), worunter aber die Färbung der roten Blutkörperchen oft leidet; ½ Stunde auf Schnitte einwirken zu lassen und dann gründlich zu wässern: Gierke, die Behandlung der Schnitte oder Stücke mit Schwefelammonium.

Verocay hat zu diesem Zweck ebenfalls verschiedene Methoden angegeben, besonders folgende: Einlegen in 1%ige wässerige Kalilauge 1 Teil, 80%igen Alkohol 25 Teile, auf 10 Minuten, Auswaschen in zweimal zu wechselndem Wasser etwa 5 Minuten, in 80%igem Alkohol 5 Minuten und Zurückbringen der Schnitte in Wasser. Gefrierschnitte braucht man nur einige (3—5) Minuten in 2%ige Kalilauge zu bringen und dann zu wässern.

5. Das Formol verändert häufig die Farbe von Gallenkonkrementen und zwar von gelb in grün, und des weiteren färbt sich unter der Einwirkung des Formols zuweilen Knorpel in der Nähe von Blutgerinnseln schwarz (Pseudoochronosis).

Die Kenntnis dieser Dinge behütet vor falschen Schlüssen.

Anwendungsmethode des Formols.

1. Man fixiert und härtet in 10%iger wässeriger Lösung von Formol etwa 1—2 Stunden bis zu 4 Tagen; im Durchschnitt 24 Stunden. Wärme (37 Grad) beschleunigt den Prozess. Man verwende wenigstens 10 mal so viel Flüssigkeit als das Gewebsvolumen beträgt. Formol kann nicht wieder verwendet, sondern muss weggegossen werden.

2. Auswässern (nicht nötig) und Schneiden auf dem Gefriermikrotom oder

3. Nachhärten in 70%igem, 96%igem und absolutem Alkohol je 24 Stunden und Einbetten.

Käufliches Formol enthält geringe Mengen von Ameisensäure und reagiert somit leicht sauer.

Gustav Mann empfiehlt, die Ameisensäure durch Stehen über Magnesium oder Natriumkarbonat zu neutralisieren und des weiteren zur Verdünnung des Formols nicht Wasser, sondern isotonische physiologische Kochsalzlösung zu verwenden, da sonst Zentralnervensystem, rote Blutkörperchen etc. schwellen und verändert werden. Andererseits scheint in der Regel die leichtsaure Reaktion des Formols eher ein Vorteil, denn ein Nachteil, da, wie oben bereits auseinandergesetzt, säurehaltige Fixierungsmittel vorteilhaft sind (bei Gelegenheit muss man daran denken, dass die Säuren, so auch die Ameisensäure, Kalk lösen).

So empfiehlt auch Tellyesniczky, dem Formol auf 100 ccm je 5 ccm Essigsäure zuzusetzen.

In Formol überfixierte Gewebe kann man durch Einlegen in 10%ige Zitronensäure oder Argentum nitricum-Lösung (2–3%ige wässerige) wieder weich machen (Schmidt).

Das Formol wird auch in Mischungen gebraucht. Von diesen sollen nur die beiden folgenden hier erwähnt werden.

1. Das Orthsche Gemisch, ebenfalls ein ausgezeichnetes allgemeines Fixierungs- und Härtungsmittel.

Formalin (das käufliche) 10 ccm,
Müllersche Flüssigkeit 100 ccm (s. unten).

Das Gemisch ist stets frisch zu bereiten, da es sich nicht gut hält. Man verwendet dasselbe meist etwa 12—24 Stunden; erstere Zeit ist genügend vor allem im Brutschrank bei 37 Grad. Man muss auswaschen und kann dann auf dem Gefriermikrotom schneiden oder in Alkohol nachhärten und einbetten.

2. Formolalkohol besonders von Parker, Floyd und sodann von Fish empfohlen.

Formalin (das käufliche) 10 ccm,
95 %iger Alkohol 100 ccm.

Man fixiert hierin 12—24 Stunden.

II. Alkohol.

Der Alkohol ist ein gutes allgemeines Fixierungsmittel und härtet zur selben Zeit, ja er ist das zur Nachhärtung fast ausschliesslich verwandte Medium.

Soll von vorne herein in Alkohol eingelegt, also in diesem gleichzeitig fixiert werden, so muss sofort in starken Alkohol eingelegt werden, sonst koaguliert er nicht mit der für ein gutes Fixierungsmittel nötigen Schnelligkeit (s. oben).

Man wählt am besten 95—96 %igen Alkohol. Das zu fixierende Stück soll klein sein, und man muss hinreichend viel Flüssigkeit nehmen und öfters, etwa alle 6 Stunden, wechseln, indem man dann zu absolutem Alkohol übergeht.

Der Alkohol besitzt im Hinblick auf das Formol etc. vor allem folgende Nachteile:

1. Die plötzliche Wasserentziehung der Gewebe bewirkt oft sehr starkes Schrumpfen, so gehen zahlreiche Details verloren. Deswegen lehnen manche Autoren den Alkohol als Fixierungsmittel ganz ab.

2. Die Konsistenz nach Fixierung in Alkohol ist viel unangenehmer wie nach Vorfixierung in Formol, Sublimat etc. Nach der Einbettung rächt sich dies beim Schneiden.

3. Zerstört der Alkohol rote Blutkörperchen unter Ausziehen von Hämoglobin.

Anderseits stehen dem folgende Vorzüge des Alkohols entgegen, welche seine Verwendung in speziellen Fällen empfehlen.

1. Die Schnelligkeit der Vorbereitung zur Einbettung.

Da sofort in starkem Alkohol fixiert wird, wird jede zeitraubende Vorbereitung vermieden. Deswegen wird der Alkohol angewandt an Objekten, welche einerseits zu klein oder weich sind, um auf dem Gefriermikrotom (nach Formolhärtung) geschnitten werden zu können, aber andererseits möglichst schnelle Einbettung zur Diagnosenstellung erheischen. In diesem Falle, wenn besondere Eile geboten ist, legt man direkt in absoluten Alkohol ein (s. z. B. Lubarschs Schnellmethode unten).

2. Der Alkohol gestattet besonders gut Färbungen auf Bakterien.

3. Ebenso ist er besonders geeignet für manche Färbungsmethoden, besonders zur Darstellung mancher feineren Granula.

4. Allein absoluter Alkohol konserviert das Glykogen, sodass es dargestellt werden kann.

Es gibt zahlreiche Alkoholmischungen, doch sei erwähnt, dass von diesen am empfehlenswertesten der schon erwähnte Formolalkohol ist.

Des weiteren sei hier noch angeführt das vielfach. besonders in Frankreich gebrauchte Carnoysche Gemisch.

Es besteht aus:

Alkohol absolut. 6 Teile,
Eisessig 1 Teil,
Chloroform 3 Teile.

Man lässt dies Gemisch nur 1—3 Stunden einwirken, da es schnell und selbst etwas grössere Stücke gut fixiert, härtet ohne zu wässern in absolutem Alkohol nach und bettet ein.

Um Alkohol absolut zu halten, da er leicht Wasser aus der Luft anzieht — und somit zu sparen — kann man folgendermaßen verfahren:

Man benutzt einen Exsikkator. auf dessen Boden man in Gaze eingehülltes weisses (d. h. im Porzellantiegel ausgeglühtes) Kupfersulfat bringt und füllt den Apparat dann mit Alkohol. Auf ein Drahtnetz legt man die zu entwässernden, bezw. zu fixierenden Gewebe auf, so dass dieselben nicht mit dem Kupfer in Berührung kommen. Das am Boden befindliche Kupfersulfat hält den Alkohol absolut; wenn es blau geworden ist, muss es ersetzt werden.

Ein praktisches Gefäss für derartige Zwecke ist von Oelsner empfohlen worden.

Es sind auch zahlreiche andere Verfahren zum gleichen Zweck angegeben worden.

Will man den Alkohol prüfen, ob er noch absolut ist (und will man ebenso Objekte prüfen, ob sie im absoluten Alkohol vollständig entwässert sind), so bringt man einige Tropfen des Alkohols (bezw. das Objekt) in ein Schälchen mit reinem Xylol; bilden sich keine weissen Wolken bezw. Niederschläge (auf schwarzem Grund beobachten), so ist der Alkohol ganz oder fast ganz absolut (bezw. die Objekte entwässert).

Yvon setzt zur Prüfung des absoluten Alkohols einer Probe desselben grobes Pulver von Kalziumkarbid zu. Jede Spur von Wasser ruft Entwicklung von Azetylen hervor, und das Kalkhydrat trübt die Flüssigkeit sofort.

Um den Alkohol auf seine Reinheit zu prüfen, empfiehlt P. Mayer 1% der folgenden Mischung zuzusetzen:

Hämatein 1 gr.
Chloraluminium 1 gr,
Alkohol 100 ccm.

Nach 24 Stunden darf, wenn der Alkohol rein ist, diese Lösung keinen Ausfall bewirken.

Hier angehängt sei eine kleine Tabelle zur Verdünnung des Alkohols nach Lee-Mayer.

Gewünschte Stärke in Prozenten	Spez.-Gewicht bei 15° C.	Ursprüngliche Stärke in Prozenten					
		90	85	80	70	60	50
85	0,849	6,56					
80	0,863	13,79	6,83				
70	0,889	31,05	23,14	15,35			
60	0,913	43,65	44,48	35,44	17,58		
50	0,933	84,71	73,91	63,04	41,73	20,47	
30	0,965	206,22	188,57	171,05	136,04	101,71	67,45

Die Tabelle zeigt wieviel Raumteile Wasser man zu 100 Raumteilen Alkohol der ursprünglichen Stärke (rechts in der Tabelle) hinzusetzen muss, um den gewünschten Alkohol (links in der Tabelle) zu erhalten.

III. Aceton.

Es wird ähnlich wie der Alkohol verwandt. Auch wirkt es wie absoluter Alkohol und fixiert und härtet noch schneller, lässt aber die Gewebe noch stärker wie dieser schrumpfen. Zur Nachhärtung vorfixierten Materials und zur Wasserentziehung, wobei es nur kurz einwirken soll, dient es vor allem im Paraffinschnellverfahren. (Nach Henke und Zeller, s. dort.)

IV. Chromsäuremischungen.

Die Chromsäure selbst wird heute, da die Färbungen nach ihr sehr schlecht gelingen und sie nicht besonders gut fixiert, selten als Fixationsmittel verwandt, vielmehr weit häufiger ihre Salze in Mischungen angewendet.

Die wichtigsten dieser sind die doppelchromsauren Salze, d. h. die Salze der Dichromsäure $= Cr_2O_7H_2$. Sie finden besonders beim Nervensystem Verwendung (s. dort). Die ohne jeden Vergleich wichtigste Mischung ist die

1. Müllersche Flüssigkeit. Sie hat folgende Zusammensetzung:

doppelchromsaures Kalium 2,5 gr,
schwefelsaures Natrium 1 gr,
Wasser (destilliertes) 100 ccm.

Die Flüssigkeit dringt nur langsam ein. Man muss viel Flüssigkeit verwenden, selbst kleine Stücke brauchen mehrere Wochen, doch kann man durch Erwärmung den Prozess beschleunigen. Auch kann man in Müllerscher Flüssigkeit grosse Gewebsstücke härten, doch dauert dies dann Monate.

Die Müllersche Flüssigkeit soll in den ersten Tagen täglich, später wenigstens alle paar Tage gewechselt werden.

Um die Entwicklung von Bakterien und Schimmelpilzen zu verhüten, setzt man der Flüssigkeit ein kleines Stückchen Kampher oder einen Sublimatkristall vorteilhaft zu. Nach der Härtung können die Gewebe direkt auf dem Gefriermikrotom geschnitten oder (erst nach kurzem Auswässern) in Alkohol von steigender Konzentration nachgehärtet und eingebettet werden. Die Entwässerung im Alkohol wird im Dunkeln vorgenommen, da im Tageslicht unlösliche Chromniederschläge entstehen.

Ehedem war die Müllersche Flüssigkeit das allgemeine Fixierungs- und Härtungsmittel. Heute wird sie hauptsächlich noch zur Untersuchung des Auges und des Nervensystems angewendet, doch ist es hierbei besonders ratsam, nicht Müllersche Flüssigkeit allein zu verwenden, sondern das schon genannte Orthsche Gemisch, also Müllersche Flüssigkeit, mit Zusatz von Formol oder auch schon im Formol vorfixierte Gewebsstücke erst dann in die Müllersche Flüssigkeit einzulegen. Zu speziellen Zwecken (s. die Weigertschen etc. Nervensystemmethoden) finden dann andere Lösungen der chromsauren Salze besser Verwendung als die Müllersche Flüssigkeit.

Schmorl rühmt als besonderen Vorteil der Müllerschen Flüssigkeit, dass sie die Gewebe für die Paraffineinbettung in eine zum Schneiden besonders günstige Konsistenz bringt.

2. Erlickysche Flüssigkeit. Ihre Zusammensetzung ist:

Doppelchromsaures Kalium 2,5 gr,
schwefelsaures Kupfer 0,5 gr,
Wasser 100 ccm.

Auch dieses Gemisch wird fast nur für das Zentralnervensystem verwendet. Es fixiert weit schneller als die Müllersche Flüssigkeit, aber immerhin auch erst in etwa 8 Tagen. Die Flüssigkeit ist auch für relativ grosse Objekte anwendbar. Ein Nachteil dieser Flüssigkeit ist häufiges Auftreten trügerischer Niederschläge. Diese lassen sich aber durch Behandlung des Gewebes mit heissem oder salzsäurehaltigem Wasser oder durch Behandlung mit $^1/_2$ %iger Chromsäure entfernen, bevor man in den Nachhärtungsalkohol überführt.

V. Sublimat.

1. Konzentrierte wässerige (destilliertes Wasser) Lösung von Sublimat ($HgCl_2$), dem man am besten (zu 100 ccm je 5 ccm) Eisessig zusetzt. Letzterer führt gründlichere Fixation herbei.

2. In der Wärme gesättigte Lösung von Sublimat in 0,5 %iger Kochsalzlösung (nicht rationell).

In 1. wie 2. bleiben die Stücke 2—6 Stunden und werden dann wie unten in der Zenkerschen Lösung angegeben weiter behandelt.

3. Zenkersche Lösung. Sie besteht aus:

Sublimat 0,5 gr.
schwefelsaures Natrium 1 gr,
doppelchromsaures Kalium 2,5 gr,
destilliertes Wasser 100 ccm,
Eisessig 5 ccm,

d. h. 0,5 % Sublimat und 5 % Eisessig in Müllerscher Flüssigkeit.

Man löst in der Wärme und setzt den Eisessig, damit er nicht verdunstet, gerade vor dem Gebrauch zu.

Es können nur kleine und dünne Stücke fixiert werden und zwar kommen sie auf 24 Stunden in die Lösung und müssen dann nach mindestens 24stündigem Auswässern in fliessendem Wasser in Alkohol von steigender Konzentration übertragen werden.

Um Sublimatniederschläge zu vermeiden, setzt man dem 70 %igen Alkohol, wie er bei der Nachhärtung zur Verwendung kommt, soviel Jod zu, bis eine braunrote Farbe entsteht. Das Quecksilber verbindet sich mit dem Jod zu Quecksilberjodid und der Alkohol wird allmählich farblos. Wenn dies eingetreten, muss er gewechselt werden, und dies muss wiederholt werden, bis keine Entfärbung mehr eintritt. Statt des Zusatzes von Jod zum Alkohol verwendet man besser die Lugolsche Lösung, da das hierin enthaltene Jodkalium mehr Quecksilber bezw. Quecksilberjodid bindet. Statt der wässerigen Lugolschen Lösung stellt man sich aber eine alkoholische her, indem man das Wasser durch 90 %igen Alkohol ersetzt, z. B. folgendermaßen:

Jodkalium 5 gr,
Jod 0,5 gr,
Wasser 5 ccm,
90 %iger Alkohol 45 ccm.

(Über Einzelheiten s. Lee-Mayer, Mikroskopische Technik 1910, 4. Aufl., S. 42.)

Die Gewebe werden dann in der gewohnten Weise eingebettet. Sollten die Schnitte noch Quecksilberniederschläge enthalten, so legt man sie noch auf eine halbe bis eine Stunde in die alkoholische Jodlösung und wäscht sie sodann in Alkohol aus. Die Schnitte färben sich dann auch besser.

Gustav Mann empfiehlt überhaupt zur Zerstörung der Sublimatniederschläge die Jodlösung immer erst nach der Einbettung auf die Schnitte einwirken zu lassen.

4. Hellysche Flüssigkeit. Zenkersche Lösung, der statt 5 ccm Eisessig 5 ccm Formol (40 %iges) zugesetzt ist. Diese Mischung ist besonders zur Darstellung von Zellgranula geeignet. Man fixiert in ihr 6 Stunden, dann in Zenkerscher Lösung ohne Zusatz von Eisessig 24 Stunden nach. Anwendung der Jodlösung zur Entfernung der Niederschläge soll hierbei nicht notwendig sein.

Dass in Sublimat bezw. Zenkerscher Mischung gehärtete Objekte auch, wenn auch nicht sehr günstig, auf dem Gefriermikrotom geschnitten werden können, ist bereits im vorigen Kapitel erwähnt.

Bei Bearbeitung der Schnitte wähle man Glas- statt Metallpräpariernadeln, da diese zu Niederschlägen führen können.

5. Nach Klingmüller und Veiel wird zur Sublimathärtung eine 5%ige Lösung des Sublamins in destilliertem Wasser verwandt. Man braucht nur eine halbe bis mehrere Stunden zu fixieren und härtet dann direkt in Alkohol nach. Niederschläge bilden sich kaum, Färbungen lassen sich leicht vornehmen.

Die Sublimatlösungen, besonders die Zenkersche Flüssigkeit, erhalten zwar Gewebs- und Zellstrukturen sehr gut und sind für die Darstellung einzelner Zelldetails und vor allem für diejenigen von Mitosen ganz besonders geeignet. Man färbt dann am besten im Heidenhainschen Eisenhämatoxylin oder Biondi-Heidenhainschen Dreifarbengemisch nach. Auch ist für bestimmte Färbungsmethoden, so die Mallorysche, Härtung in Sublimat direkt vorgeschrieben. Andererseits empfehlen sich die Zenkersche Flüssigkeit und überhaupt die Sublimatlösungen als allgemeine Fixierungs- und Härtungsmittel nicht, da die Herstellung der Flüssigkeiten umständlicher und der Härtungsprozess ein langsamerer ist, die Nachhärtung und die Entfernung der Niederschläge ebenfalls umständlicher und zeitraubender und die spätere Färbung mit einzelnen Methoden (besonders mit Karminlösungen) schwieriger ist, als z. B. bei Fixierung und Härtung in Formol; auch können nur kleinere Stücke als in Formol gehärtet werden.

VI. Osmiumsäure und ihre Gemische.

1. Die Osmiumsäure (Osmiumtetroxyd $= OsO_4$) wird zumeist in 1%iger Lösung verwandt. Sie dient besonders zur Fixierung von Fett. Man lässt Gewebe in der Flüssigkeit 24 Stunden, wässert gründlich aus und schneidet entweder auf dem Gefriermikrotom oder härtet in steigendem Alkohol nach und bettet ein. Die einzulegenden Stücke dürfen nur sehr klein sein. Die gewöhnlichen Kernfärbemittel färben nach Osmiumsäurefixierung recht schlecht. Am besten noch das Safranin und das Bendasche Eisenhämatoxylin. Man kauft die Osmiumsäure (etwa 15 Mark das Gramm) in zugeschmolzenen Glasröhren à etwa 1 gr. Der Geruch der Osmiumsäure reizt die Schleimhäute. Die Osmiumsäure ist sehr flüchtig und wird in wässeriger Lösung leicht reduziert; die Lösung ist daher schwer aufhebbar und muss auf jeden Fall vor Licht und Staub geschützt stehen. Die Lösung wird weit haltbarer, wenn man zu 100 ccm 10 Tropfen 5%iger Sublimatlösung zusetzt.

Bessere Resultate als die Osmiumsäure allein geben ihre Gemische. Als solche kommen vor allem in Betracht:

2. Das Flemmingsche Gemisch. Dieses besteht aus:

1%ige wässerige Chromsäurelösung 15 ccm,
2%ige wässerige Osmiumsäurelösung 4 ccm,
Eisessig bis zu 1 ccm.

Sehr kleine dünne Stücke werden etwa 24 Stunden lang in die Lösung eingelegt, dann 24—48 Stunden in fliessendem Wasser ausgewässert (sonst können Osmiumsäureniederschläge falsche Resultate vortäuschen) und sodann in Alkohol von steigender Konzentration nachgehärtet. Die Osmiumsäure dringt nur schwer ein, und deswegen ist die Mitte des Stückes oft schlecht durchfixiert, während der Rand überfixiert ist. Gerade aus diesem Grunde müssen die zu verwendenden Stücke so klein sein.

Die Flemmingsche Mischung hat immerhin erhebliche Vorzüge vor der einfachen Osmiumsäure und dient vor allem zur Darstellung von Kernstrukturen, besonders Kernteilungen und ferner von Fett. Zu ersterem Zweck gibt es kein besseres Fixierungsmittel. Zur Nachfärbung eignet sich vor allem Safranin, Karbolfuchsin und Anilingentianaviolett.

3. Hermannsches Gemisch. Seine Zusammensetzung ist:

1%ige wässerige Platinchloridlösung 15 ccm,
2%ige wässerige Osmiumsäurelösung 4 ccm,
Eisessig 1 ccm.

Es handelt sich hier nur um einen Ersatz der Chromsäurelösung des Flemmingschen Gemisches durch Platinchloridlösung. Die Anwendung ist dieselbe wie die des Flemmingschen Gemisches. Ebenso dieselben Nachfärbungen. Das Hermannsche Gemisch bringt feinere Protoplasmastrukturen in ausgezeichneter Weise zur Fixation, ist aber teurer als die Flemmingsche Lösung.

4. Marchisches Gemisch. Es besteht aus:

Müllersche Flüssigkeit 2 Teile,
1%ige wässerige Osmiumsäurelösung 1 Teil.

Speziell für Degenerationen des Nervensystems in Verwendung (s. dort).

5. Das Altmannsche Gemisch. Es besteht aus:

5%ige wässerige Kaliumbichromicumlösung,
2%ige wässerige Osmiumsäurelösung
zu gleichen Teilen gemischt.

Man fixiert 24 Stunden, wäscht gründlich aus und härtet in Alkohol nach. Dieses Gemisch wird zur Fixierung der Granula Altmanns verwandt.

Alle Osmiumsäurelösungen müssen in destilliertem Wasser hergestellt werden und müssen in einer mit Glasstöpsel (Korkpfropfen wegen ihres Gerbsäuregehaltes zu vermeiden) gut verschlossenen (Flüchtigkeit der Osmiumsäure) braunen Glasflasche im Dunkeln aufbewahrt werden.

Der allgemeinen Anwendung der Osmiumsäure als Fixierungsmittel stellen sich folgende Hindernisse in den Weg:

1. Sie ist überaus teuer.

2. Sie dringt nur sehr schwer in die Gewebe ein, so dass nur ganz kleine Stücke fixiert werden können, sonst werden die äusseren Schichten überfixiert, die inneren noch nicht erreicht.

3. Viele Färbungen, besonders die meist üblichen Kernfärbungen gelingen nach Osmiumsäurehärtung nur sehr schlecht.

4. Wenn nicht genügend gewässert wird, kann sich reduzierte Osmiumsäure in den Objekten niederschlagen und somit falsche Resultate vortäuschen.

Noch sei erwähnt, dass bei der Einbettung meist Flüssigkeiten verwendet werden, so bei der Celloidineinbettung Äther, bei der Paraffineinbettung Xylol, welche osmiumsäuregeschwärztes Fett lösen. Man bettet daher am besten in Paraffin nach kurzer Anwendung von Benzin ein. Zum Einschluss der Schnitte wähle man am besten nicht in Xylol gelösten, sondern durch Erwärmen flüssig gemachten reinen Kanadabalsam.

VII. Pikrinsäure und ihre Mischungen.

Man verwendet die kalt gesättigte wässrige Lösung der Pikrinsäure (Trinitrophenol = $C_6H_2(NO_2)_3OH$) und fixiert hierin kleine Stücke 12—24 Stunden. Man entfernt sodann die Pikrinsäure aus den Gewebsstücken nicht mit Wasser, sondern mit Alkohol und härtet in Alkohol steigender Konzentration nach. Feinere Zellstrukturen, wie Mitosen, werden gut fixiert. Man vergesse aber evtl. nicht, dass Pikrinsäure Kalk löst.

Von weiteren Härtungs- und Fixierungsflüssigkeiten, welche seltener in Gebrauch kommen, sollen hier nur erwähnt werden:

das Merkelsche Gemisch:
(Chromsäure 1 gr,
Platinchlorid 1 gr,
Wasser 800 ccm),

Die Burkhardtsche Chromsäure-Osmiumsäure-Salpetersäure-Mischung,

Rabls Chrom-Ameisensäure-Mischung,

Flemmings Chrom-Essigsäure-Mischung,

Rawitz' Chromsäure-Pikrinsäure-Salpetersäure-Mischung oder
Phosphorwolframsäure (40 ccm, 96 %iger Alkohol 50 ccm, Eisessig 10 ccm),

Pianesesche Mischung,

Trichloressigsäure (5 %ige nach Heidenhain),

Pikrinschwefelsäure nach Kleinenberg etc. etc

Wegen aller Details sei besonders auf die Bücher von Lee-Mayer, sowie Gustav Mann verwiesen.

VIII. Kochmethode.

Kleine Gewebsstücke werden in Wasser zu 100 Grad für einige Minuten eingelegt. Es koagulieren auf diese Weise die Eiweisse. Es wird sodann in 96 % igem Alkohol nachgehärtet.

Diese Methode ist zur Fixierung von eiweisshaltigen Flüssigkeiten vorteilhaft, so zur Darstellung von Lungenödem, Nierenzylindern und eiweisshaltigem Zysteninhalt.

IX. Gefrier- und Austrocknungsmethode nach Altmann.

Ganz frische Gewebsstücke werden gleichzeitig gefroren und entwässert, indem man sie bei einer Temperatur von — 20 bis — 30° im Vakuum über Schwefelsäure trocknet. Wenn völlig ausgetrocknet, werden sie in Paraffin eingebettet. Altmann gibt an, dass auf diese Weise die Gewebe vollständig unverändert, nur ihres Wassers beraubt, erhalten bleiben.

Fixierung und Härtung makroskopischer Präparate (in natürlichen Farben) zu Sammlungszwecken.

Zur Härtung makroskopischer Präparate wurde zunächst der Alkohol, später Formol benutzt. Sodann wurden Methoden von Melnikow-Raswedenkow, Kaiserling, Pick, Jores, Westenhöffer etc. angegeben, welche die Gewebe zugleich härten und sie in ihren natürlichen Farben erhalten.

Gehört auch die Behandlung makroskopischer Präparate nicht gerade zu dem Objekt dieses Buches, so sollen diese Methoden hier doch erwähnt werden, weil es oft genug vorkommt, dass zu Museumszwecken so erhaltene Präparate noch nachträglich zur histologischen Untersuchung verwandt werden. Man kann sie dann aus der Flüssigkeit, in welcher sie dauernd aufgehoben werden (s. unten) nach Wässern, oder nachdem man sie kurz noch in Formol gelegt hat, auf dem Gefriermikrotom schneiden, oder sie in Alkohol steigender Konzentration nachhärten und einbetten.

Kommt es nicht auf die makroskopische Erhaltung eines ganzen Organs an, so schneidet man besser aus dem Organ, vor allem der Leber, nur eine Scheibe heraus. Sie härtet sich und konserviert ihre Farbe besser als ganze grosse Organe. Beim Einlegen in die erste Flüssigkeit muss man den Stücken schon diejenige Form und Lage geben, in welcher man sie zu konservieren wünscht. Vor allem muss also jeder Druck, welcher Entstellungen herbeiführen könnte, vermieden werden.

Die Flüssigkeiten müssen an die Stücke von allen Seiten heran können. Man legt daher am besten auf den Boden des Gefässes Watte.

Leberstücke mit viel Galle lassen sich oft schlecht konservieren, weil der Gallenfarbstoff im Formol grün wird und leicht das Gewebe inhibierend das ganze Stück grünlich färbt.

Die Organe oder Gewebe werden bei allen diesen Methoden zunächst in eine Formolmischung gebracht. Man setzt dem Formol Salze zu (am einfachsten und billigsten nach Pick künstliches Karlsbader Salz, besser jedoch

die von Kaiserling angegebenen, unten beschriebenen Salze); sie dienen zur stärkeren Einwirkung des Formols und arbeiten der Auslaugung des Hämoglobins aus den roten Blutkörperchen durch die hypotonische Formollösung entgegen. Aus dieser ersten Lösung kommen die Präparate in Alkohol, wo sie ihre natürlichen Farben wiedergewinnen, und endlich werden sie in einer dritten Lösung dauernd aufbewahrt, welche aus Glyzerin besteht, dem man Kalium aceticum zusetzt, damit das Präparat nicht zu durchsichtig wird. Da diese dritte Lösung oft bald trübe wird, muss sie gewechselt werden.

Die theoretischen Grundlagen aller dieser Methoden sind von Puppe erforscht worden. Hiernach verwandelt sich das Oxyhämoglobin in dem Formol in saures Hämatin, dieses wiederum im Alkohol in alkalisches Hämatin um, welches rot gefärbt ist und zwar der Farbe des Oxyhämoglobins so ähnlich, dass eine fast natürliche Farbe des Organs resultiert.

Von diesen Methoden soll die häufigst gebrauchte, die nach Kaiserling, hier angegeben werden.

1. Fixieren der Gewebe mehrere Tage hindurch, bis sie gerade hart sind, in folgender Flüssigkeit:

Formol 200 ccm,
Wasser 1000 ccm,
Kalium nitricum 15 gr,
Kalium aceticum 30 gr.

2. Übertragen in 80%igen Alkohol, bis die natürlichen Farben zurückgekehrt sind, was meist 1—6 Stunden in Anspruch nimmt, und sofortiges Übertragen zur Aufbewahrung in:

3. folgende Lösung:

Glyzerin 400 ccm,
Kalium aceticum 200 gr,
Wasser 2000 ccm.

Zur dauernden Aufbewahrung aller Präparate muss das mit dem Glyzeringemisch gefüllte Gefäss luftdicht verschlossen sein. Am besten schützt man auch die in der Sammlung aufgehobenen Präparate vor Sonnenlicht.

Es ist noch zu bemerken, dass die Harnsäure der Harnsäureinfarkte oder gichtischer Gelenke im Formol gelöst wird und ebenso kleine Kalkmassen, infolge der in der käuflichen Formaldehydlösung stets vorhandenen Ameisensäure. Für diesen Zweck hat Westenhöffer folgende Modifikation angegeben: Man legt das Präparat nicht in die Formollösung, sondern hängt es in einem gut verschlossenen Gefäss oben auf, während formoldurchtränkte Watte auf den Boden gebracht wird, so dass die Dämpfe zum Fixieren und Härten dienen, ohne dass das Gewebe direkt mit der Formollösung in Berührung kommt. Nach einigen Stunden überträgt man die Gewebe in 90—95%igen Alkohol, dem etwas pulverisiertes Quecksilberoxyd (zur Bindung der Ameisensäure) zugesetzt wird, bis die Farbe wiedergekehrt ist, und legt sie dann zur dauernden Aufbewahrung in reines Glyzerin, dem ebenfalls Quecksilberoxyd, welches öfters erneuert werden muss, zugesetzt wird.

Aufhebung bzw. Einsendung von zur mikroskopischen Untersuchung bestimmten Gewebsstücken (ausserhalb von Instituten und dergl.).

Häufig wird der praktische Arzt in die Lage kommen, Gewebsstücke, welche auf natürlichem Wege abgegangen oder mit Hilfe des Messers, der Curette etc. Patienten entfernt wurden, so aufzuheben, dass er nachträglich

in der Lage ist, dieselben mikroskopisch zu untersuchen. Noch häufiger allerdings wird der praktische Arzt diese Stücke in geeigneter Weise aufheben wollen, um sie einem pathologischen Institut zur Untersuchung zuzusenden. Sowohl für den Arzt, welcher eine möglichst genaue anatomische Diagnose zur Unterstützung seiner klinischen haben möchte, wie für den pathologischen Anatomen, welcher die Untersuchung leiten soll und sich bei ungeeigneter Aufhebung zwecklos besondere Arbeit auferlegen muss, wie besonders im Interesse des Patienten, ist es von grösster Wichtigkeit, dieses Material so aufzuheben, dass es zur mikroskopischen Untersuchung geeignet bleibt. Da diese Frage also besonderes Interesse erheischt, wollen wir hier die gebräuchlichsten Ratschläge zusammenstellen.

1. Wenn eine Untersuchung bald vorgenommen werden soll, und besonders wenn das Material sehr schnell an ein pathologisches Institut eingesandt werden kann, so ist es das bei weitem Beste, dasselbe in frischem Zustande einzusenden. Es muss hierbei auf die Temperatur Rücksicht genommen werden. Die Gewebe halten sich naturgemäß im Sommer weniger lang als im Winter. Man legt die Gewebe in Blechbüchsen, oder wenn solche nicht zur Verfügung stehen, in Gläser, oder schlägt sie, wenn auch dies nicht möglich ist, in undurchlässige Guttapercha oder dergleichen ein. Man muss darauf Rücksicht nehmen, den Geweben Spielraum zu lassen, also keinen entstellenden Druck auf sie auszuüben. Evtl. kann man eisgekühlte Tücher oder auch Beigabe von etwas Eis benutzen.

Alle Gewebe, welche, wie Gaze, ihre Netzzeichnung auf dem menschlichen Gewebe abdrücken würden, sind zu vermeiden.

Auf diese Weise gelingt es, dass derjenige, welcher die Untersuchung vornehmen soll, auch einen makroskopischen Eindruck gewinnt, sich über das ganze z. B. exstirpierte Gewebe orientieren und vor allem diejenigen Stücke, welche zur Diagnose wichtig sind, herausschneiden kann. Denn dass hierbei auf das makroskopische Erkennen ebensoviel wie auf die mikroskopische Untersuchung ankommt, ist bereits früher betont.

Sollen die eingesandten Stücke noch zu makroskopischer Demonstration verwendet werden, so ist ebenfalls diese frische Einsendung zu empfehlen. Nur muss hier daran gedacht werden, dass, wenn die oben erwähnte Kaiserlingsche Methode zur Erhaltung der natürlichen Farben angewandt werden soll, die Präparate nur gut gelingen, wenn sie sehr schnell nach der Entnahme an ein Institut übersandt und sogleich in die erste Kaiserling-Lösung eingelegt werden. Sonst empfiehlt es sich mehr, die Stücke womöglich schon in der ersten Kaiserlingschen Flüssigkeit zu übersenden.

Formol ist, wenn es auf makroskopische Demonstrationen ankommt, durchaus zu vermeiden.

2. Wenn eine schnelle Übersendung oder evtl. eigene sofortige mikroskopische Untersuchung ausgeschlossen erscheint, oder wenn es sich um einen weiteren Transport handelt, bzw. wenn die zu untersuchenden Stücke nicht vom Lebenden, sondern von Sektionen stammen und schon Fäulniserscheinungen sich geltend machen, muss man die Organe oder die Gewebsstücke sofort in Fixierungsflüssigkeit einlegen.

Hier empfiehlt sich bei weitem am meisten 10%iges Formol. Und da in der Tat in der Regel eine sofortige Übersendung unmöglich ist, ist als allgemeines Einlegemittel, solcher

an Institute zu überschickenden Gewebe, das Formol als das geeignetste Mittel zu empfehlen.

Hierbei ist insbesondere zur Pflicht zu machen, dass das Gefäss reichlich Formol enthalten soll, mindestens 10 mal so viel als dem Volumen des Gewebsstückes entspricht. Hiergegen wird überaus oft gefehlt, und es gelangen dann Gewebe an den pathologischen Anatomen, bei welchen die Formolfixierung illusorisch, die Fäulnis weiter fortgeschritten und somit eine für die Diagnose grundlegende Untersuchung unmöglich ist.

Das Formol gestattet fast alle und vor allem die gebräuchlichsten, wichtigsten Färbungen in sehr guter Weise und fixiert sehr schnell, so dass meist sofort nach dem Eintreffen in dem Institut Gefrierschnitte angefertigt werden können.

Es ist darauf zu achten, dass gewisse sehr blutreiche Gewebsstücke vor dem Einlegen in Formol am besten mit Wasser leicht abgespült werden. Doch ist alles, was die Gewebe zerstören könnte, so auch heisses Wasser oder mechanische Einwirkungen durchaus zu vermeiden.

Ein kleiner Kunstgriff sei noch erwähnt, dass man nämlich solche formolgehärtete Stücke, um ihre natürlichen Farben einigermaßen wieder herzustellen und somit makroskopisch ein besseres Urteil fällen zu können, oft vorteilhaft in starken Alkohol überträgt. (Naturgemäß erst nach dem Abschneiden derjenigen Stücke, welche auf dem Gefriermikrotom geschnitten werden sollen.)

3. Nur in Ausnahmefällen soll man Gewebe zur Übersendung direkt in starken Alkohol legen.

Als solche Ausnahmefälle kommen in Betracht: Einmal wenn dem praktischen Arzt Formol nicht zu Gebote steht, sodann wenn es sich um kleine Stücke handelt, welche erfahrungsgemäß zumeist nicht auf dem Gefriermikrotom geschnitten werden können, wie vor allem Curettements, und wenn gleichzeitig grösste Eile geboten ist: sonst ist auch hier eine Vorhärtung in Formol, also ein Übersenden der Stücke in dieser Flüssigkeit vorzuziehen. Des weiteren ist starker Alkohol indiziert, wenn es sich nur oder fast nur um eine Untersuchung auf Bakterien handelt.

In diesen Fällen ist auf jeden Fall sofort einzulegen (das Gewebe nicht im frischen Zustande liegen zu lassen) und zu übersenden.

Unter Umständen kommt es hierbei, insbesondere, wenn noch die in der Bakteriologie üblichen Methoden angewandt werden sollen, auf sterile Entnahme und Aufbewahrung an.

4. In vielen Fällen werden von Blut oder bakterienverdächtigen Flüssigkeiten, weichen Massen etc. Deckglastrockenpräparate hergestellt und versandt.

Es ist hierbei darauf zu achten, dass diese nach den bekannten Regeln (s. Kapitel XIV) möglichst dünn hergestellt werden und dass eine grössere Reihe eingesandt wird, da man nie wissen kann, wie viele Färbungsmethoden angewandt werden müssen und trotz aller Vorsicht oft ein Teil der Präparate unbrauchbar ist.

Die Deckgläschen werden — aber erst wenn sie vollständig trocken sind — aufeinander gelegt, am besten mit Dazwischenlegen von etwas Seidenpapier, und entweder in Papier eingehüllt oder noch besser in einem leeren kleinen Deckglaskästchen übersandt.

5. Es ist allen Einsendern zur Pflicht zu machen, gleichzeitig mit der Übersendung des Materials eine genauere Beschreibung, um was es sich handelt, mitzugeben.

Es sollen Geschlecht, Alter etc. des Patienten, genauer Ursprungsort der eingesandten Gewebe, klinische Annahme der Diagnose, evtl. besondere Medikamente und dergl. mitgeteilt werden.

Nur dann ist oft eine richtige anatomische Beurteilung möglich, während ein Fehlen dieser Mitteilungen nicht nur dem Untersucher überflüssige Arbeit verursachen, sondern zuweilen auch die Diagnose unmöglich machen kann und die viel verbreitete Meinung, der anatomische Untersucher gehe dann „unbeeinflusster" an das Objekt und gelange somit zu einer objektiveren Diagnose, auf einer vollständigen Verkennung der Sachlage beruht.

Kapitel V.

Entkalkung. Entpigmentierung. Entfettung.

Entkalkung.

Knochen und kalkhaltige Gewebe können in der Regel nicht geschnitten werden, bevor die Kalksalze nicht entfernt sind. Man nimmt diese Entkalkung am besten zwischen dem Prozess der Fixierung (und Vorhärtung) und dem Nachhärten vor. Doch kann man, besonders wenn in der Gesamtstruktur des Gewebes nichts verändert werden soll, auch erst in Celloidin einbetten und dann an den Blöcken die Entkalkung vornehmen.

Bei der Entkalkung muss folgendes beachtet werden:

1. Um die übrigen Gewebe möglichst zu schonen, müssen die Gewebsstücke erst fixiert sein, bevor sie in die Entkalkungsflüssigkeit eingelegt werden, da die hierzu verwendeten Reagentien starke Säuren sind und somit die Gewebe erheblich schädigen. Dies kann man auch vermeiden, indem man der Entkalkungsflüssigkeit ein Fixierungsmittel, z. B. Formol, direkt zusetzt.

2. Man verwende nur kleine Stücke Gewebe, da sonst, bis die Entkalkungsflüssigkeit zu den inneren Zellagen vordringt, die äusseren bereits geschädigt sind. Man nehme daher auch grosse Massen der Entkalkungsflüssigkeit und wechsele sie häufig.

3. Die Gewebe bleiben in der Entkalkungsflüssigkeit, bis ihre Kalksalze gelöst sind, länger aber nicht. Man erkennt diesen Zeitpunkt am besten daran, dass die Gewebsstücke jetzt biegsam sind oder auch für ein Messer (das Messer wird von der Entkalkungsflüssigkeit angegriffen, daher ein altes nehmen) oder eine Nadel schneidbar bezw. eindringbar sind. Der genaue Moment der Entfernung aus der Entkalkungsflüssigkeit ist nicht leicht zu bestimmen. Sind die Gewebe nicht vollständig entkalkt, so gibt es bei dem Schneiden auf dem Mikrotom keine rechten Schnitte, und die Messer werden lädiert. Umgekehrt, bleiben die Stücke zu lange in der Entkalkungsflüssigkeit, nachdem sie voll-

ständig entkalkt sind, so werden sie gerade dann besonders stark angegriffen, erleiden Strukturveränderungen und geben keine guten Färbungsresultate. Es ist daher nötig, oft zu probieren, ob die Stücke entkalkt sind, um sie, wenn dies der Fall, sofort aus der Flüssigkeit zu entfernen. Allgemeine Regeln über die Dauer der Entkalkung lassen sich nicht aufstellen. Sie variiert nicht nur sehr nach der benutzten Flüssigkeit und der Grösse des Stückes, sondern hängt besonders von dem jeweiligen Kalkgehalt des zu entkalkenden Stückes ab.

4. Ist Fettgewebe, z. B. Fettmark, in den Stücken vorhanden, so kann das Fett das Eindringen der Säure verhindern, und es können sich täuschende Kristallbildungen einstellen. Man entfettet daher die Stücke besser vor der Entkalkung.

5. Nach der Entkalkung wird das Gewebe in laufendem Wasser mindestens 24 Stunden lang gewässert. Jedoch ist es, um Quellung zu vermeiden, besser, erst durch chemische Bindung die Säuren aus dem Gewebe zu entfernen. Es geschieht dies durch Einlegen der Stücke in 5 %ige Lithiumsulfatlösung oder am besten in 5 %ige Kalialaunlösung für etwa 24 Stunden und sodann erst durch gründliches Auswässern etwa ebenso lang.

6. Nach der Wässerung können die Stücke, wenn grosse Eile vonnöten ist, auf dem Gefriermikrotom geschnitten werden, besser aber ist es, sie in steigendem Alkohol nachzuhärten und (in Celloidin) einzubetten.

7. Die Schnitte müssen ziemlich lange in der Färbungsflüssigkeit verbleiben, da sie infolge der Säurebehandlung meist schwer Farbe annehmen. Sollte noch Säure in den Schnitten sein, so entfernt man diese am besten vor der Färbung, indem man die Schnitte in alkalische Lösungen, z. B. in gesättigte wässerige Lösung von Lithium carbonicum, auf einige Zeit überträgt.

Von den stärkeren Entkalkungssäuren kommen in erster Linie Salpetersäure, schweflige Säure, Salzsäure sowie Trichloressigsäure in Betracht.

I. Schweflige Säure.

Sie wird (nach Ziegler) in konzentriertem Zustand zur Entkalkung verwandt. Die Gewebe müssen vorher gut fixiert sein, am besten in Formol; man entkalkt je nachdem, fast stets genügen längstens 24 Stunden. Das Entkalkungsvermögen der Säure beruht auf der Umwandlung des unlöslichen Tricalciumphosphates in leicht lösliches Monocalciumphosphat. Nach gründlicher Wässerung am besten zunächst in alkalischer Flüssigkeit wird in Alkohol nachgehärtet. Die Entkalkung ist bei dieser Methode eine sehr gleichmäßige. Die Färbungsmethoden gelingen bei ihr ausgezeichnet. Nach Schaffer bringt die schweflige

Säure zwar kollagenes Gewebe etwas zum Quellen, doch tritt dies bei vorhergehender Fixation in Formol nicht ein und geht auch beim Auswaschen zurück. Niederschläge, welche sich bilden, sind ebenfalls im Wasser leicht löslich.

II. Salpetersäure.

Ihre Anwendung als Entkalkungsmittel ist wohl die verbreitetste. Schaffer betont mit Recht, dass die einfache wässerige Lösung die besten Resultate gibt, gleichzeitig Zellen und Kernstrukturen gut erhält und ihre Färbbarkeit zulässt. Zusätze zur Salpetersäure sind daher nicht nur überflüssig, sondern meist schädlich. Man verwendet besser stärkere Salpetersäure und lässt sie kurz einwirken, als schwache. Andererseits verwende man keine zu starke Säure, da 20%ige nur wenig rascher entkalkt als 5%ige, das Gewebe aber mazerieren kann. Die 5%ige wässerige Salpetersäure gibt also wohl allein angewendet die besten Resultate. Am empfehlenswertesten ist hierbei das von Thoma angegebene Wasserrad, welches die Gewebe stets gleichmäßig mit der Flüssigkeit in Berührung bringt, wodurch die Entkalkung stark beschleunigt wird. Nach der Entkalkung wird mit Alkalien (s. oben) entsäuert, sodann ausgewässert und wie oben angegeben weiter behandelt.

Gerade diese Salpetersäurelösung ist auch geeignet zur Entkalkung bereits in Celloidin eingebetteter Objekte. Man entkalkt die Celloidinblöcke auch hier am besten im Wasserrad nach Thoma, lässt sie dann 24 Stunden in der 5%igen Lithium- oder Natriumsulfatlösung liegen, wässert in fliessendem Wasser mindestens 24 Stunden aus und überträgt den Block in Alkohol, verfährt also ganz so wie bei den noch nicht eingebetteten Stücken.

Die zahlreichen Salpetersäuregemische, welche aber weniger Gutes leisten, als die einfache Salpetersäure, da die Entkalkung meist nur durch den Zusatz verzögert wird, sollen hier nur kurz erwähnt werden:

1. Salpetersäure 10 ccm,
   10%ige Formollösung 100 ccm.

Diese Lösung hat den Vorteil, dass nicht vorher fixiert zu werden braucht, da ja der Formolzusatz zu der Entkalkungsflüssigkeit gleichzeitig fixiert.

2. Haugsche Mischung:
   Reine Salpetersäure 3—9 ccm,
   absoluter Alkohol 70 ccm,
   destilliertes Wasser 30 ccm,
   Chlornatrium 0.25 gr.

Die Lösung wurde angegeben für Gewebe, die in Sublimat gehärtet sind.

3. Phloroglucinmethode:
   Phloroglucin 1 gr,
   reine Salpetersäure 10 ccm,
   vorsichtig unter einem Abzug lösen,
   Zusatz von destilliertem Wasser 50 ccm

Zu dieser Stammlösung werden 250 ccm 20%ige wässrige Salpetersäurelösung zugesetzt. Diese Lösung soll sehr schnell entkalken und angeblich durch den Phloroglucinzusatz die Gewebe schützen.

4. Alkoholische Mischungen der Salpetersäure, welche aber weniger zu empfehlen sind. Hierher gehört die Mischung, wie sie Mayer angibt:

Salpetersäure 5 ccm,
90%iger Alkohol 100 ccm,

und vor allem die Thomasche Lösung. Sie enthält:

reine Salpetersäure 20 ccm,
etwa 96%iger Alkohol 100 ccm.

Aus dieser letzten Entkalkungsflüssigkeit sollen die Gewebe in 96%igen Alkohol übertragen werden, welcher präzipitierten kohlensauren Kalk (in Filtrierpapier eingeschlagen) im Überschuss zur Bindung der freien Säuren enthält. Die Gewebsstücke bleiben unter mehrfachem Wechseln des Alkohols etwa 8—14 Tage darin und werden dann in absolutem Alkohol entwässert. Auch diese Methode hat nach Schaffer starke Schrumpfungen zur Folge und dauert sehr lange. In den alkoholischen Salpetersäuremischungen fand Schmorl einen scholligen Zerfall der Knochensubstanz.

III. Salzsäure

ist nicht sehr zu empfehlen, da sie die feineren Strukturen nicht sehr gut erhält und die Färbbarkeit der Gewebe mehr beeinträchtigt, als die soeben besprochene Salpetersäure.

Die Salzsäure wird nicht allein, sondern in Gemischen angewendet; als solche sollen hier erwähnt werden:

1. die Ebnersche Flüssigkeit. Sie besteht aus:

10—15%ige Kochsalzlösung, der pro 100 ccm
1—3 ccm officinelle Salzsäure zugesetzt ist.

Die Stücke werden nach der Entkalkung am besten mehrere Tage zur Entsäuerung in 10—15%ige Kochsalzlösung eingelegt und dann erst ausgewässert und im Alkohol weiter behandelt. Diese Methode soll zur Entkalkung mazerierter Knochen gut verwendbar sein.

2. Alkoholische Kochsalz-Salzsäuremischung. Sie enthält:

Salzsäure 2,5—5 ccm,
Chlornatium 2,5—5 ccm,
96%iger Alkohol 500 ccm,
destilliertes Wasser 100 ccm.

3. Haugsches Gemisch. Es besteht aus:

Salzsäure 1 ccm,
Karbolsäure 0,5 gr,
abs. Alkohol 70 ccm,
Wasser 30 ccm.

IV. Trichloressigsäure nach Partsch;

man verwendet am besten folgende Lösung:

5%ige Trichloressigsäure 90 ccm,
käufliches (40%iges) Formol 10 ccm.

Diese Flüssigkeit entkalkt schnell, greift die Gewebe nur wenig an und lässt Färbungen gut zu. Man fixiert zuvor gut, am besten in

Formol, aber auch in Alkohol oder Müllerscher Flüssigkeit, wechselt die Entkalkungsflüssigkeit öfters, wässert nach vollendeter Entkalkung gut in fliessendem Wasser aus und härtet in steigendem Alkohol nach.

V. Pikrinsäure.

Es wird gesättigte wässerige Lösung verwandt. Die Säure fixiert und härtet gleichzeitig, vorangehende Fixierung ist also nicht nötig. Nach der Entkalkung, welche aber nur überaus langsam, oft erst in Monaten vor sich geht, darf nicht in Wasser, sondern muss sofort in Alkohol ausgewaschen werden, damit keine Mazerierung eintritt. Dem Alkohol setzt man am besten nach Jelinek einige Tropfen gesättigter wässeriger Lösung von Lithiumkarbonat zu, welche den Alkohol gelb färbt. Man verfährt so mit dem zu wechselnden Alkohol so lange, bis sich das Lithiumsalz nicht mehr löst, d. h. bis alle Pikrinsäure dem Gewebsstück entzogen ist.

Wegen der Langsamkeit eignet sich die Pikrinsäure nur zur Entkalkung gering verkalkter Objekte.

VI. Chromsäure-Salze und Mischungen.

2 %ige reine Chromsäurelösung entkalkt sehr langsam, lässt die Gewebe stark schrumpfen und beeinträchtigt ihre Färbbarkeit sehr; die Wirkung ist etwas schneller, wenn man einer 1 %igen Chromsäurelösung in Wasser 1 ccm Salzsäure zusetzt; auch die Müllersche oder Flemmingsche Flüssigkeit, welche ja gleichzeitig vorzüglich fixieren, entkalken aber auch nur bei häufigem Wechseln und überaus langsam, oft erst durch viele Monate hindurch. Auch diese Lösungen kommen also nur für wenig kalkhaltige Substanzen, besonders auch für kindliche Knochen, in Betracht. Nach Wässern wird in Alkohol eingelegt und eingebettet.

VII. Die Ameisensäure.

welche starke Quellungen bewirkt und daher nur nach sehr energischer Härtung in quellungshindernden Medien, z. B. Formol, angewendet werden darf, wird in 20—25 %iger wässeriger Lösung oder auch konzentriert verwandt. Um durch Auswaschen in Wasser infolge der Verdünnung der Säure nicht die Quellung zu steigern, wird direkt in starken Alkohol übertragen, der gewechselt werden muss, bis alle Säure verschwunden ist. Zur Vermeidung der Quellung empfiehlt Schmorl ein Gemisch von 10 %iger Formollösung und Ameisensäure zu gleichen Teilen. Nach der Entkalkung wird auf 2—3 Tage in öfters zu wechselndes 10 %iges Formol eingelegt, dann gründlich in Wasser ausgewaschen und in Alkohol übertragen. Es gelingt dann die Kernfärbung besonders gut.

Fassen wir nochmals kurz das am meisten praktisch zu Beachtende der Entkalkung zusammen, so kommen wir zu folgenden Resultaten:

Zur langsamen Entkalkung nur wenig Kalk enthaltender Gewebe sind das Flemmingsche Gemisch und die Müllersche Flüssigkeit, sowie die Pikrinsäure zu empfehlen. Für stark Kalk enthaltende Gewebe, wie Knochen, kommen sie in der Regel nicht in Betracht.

Hier ist am meisten zu empfehlen:

A. Die schweflige Säure, welche stets ausgezeichnete Resultate gibt. Man verfährt also bei ihr folgendermaßen:

1. Fixieren und Härten in 10%igem Formol,
2. Auswaschen in Wasser (nicht nötig),
3. Einlegen in die konzentrierte schweflige Säure, in der Regel 24 Stunden,
4. gründliches Auswaschen in fliessendem Wasser, mindestens 24 Stunden lang,
5. Einlegen in Alkohol.

B. Die 5%ige wässerige Salpetersäurelösung. Man verfährt bei ihr folgendermaßen:

1. Fixieren und Härten in Formol evtl. anderen Härtungsflüssigkeiten,
2. Auswaschen in Wasser (nicht nötig),
3. Einlegen in die 5%ige Salpetersäurelösung, am besten im Thomaschen Wasserrad,
4. Einlegen in 5%ige Lithium- oder Natriumsulfat oder Kalialaunlösung etwa 24 Stunden,
5. Auswaschen in fliessendem Wasser etwa 2 Tage,
6. Einlegen in Alkohol.

C. Trichloressigsäure. Man verfährt bei ihr folgendermaßen:

1. Fixieren in Formol oder dergl.
2. Auswaschen in Wasser (nicht nötig),
3. Entkalken in 5%iger Trichloressigsäure, am besten unter Zusatz von Formol (s. oben),
4. gründliches Wässern in fliessendem Wasser,
5. Einlegen in Alkohol.

Auch die letztgenannte Methode hat mir stets ausgezeichnete Resultate gegeben.

Zur Entkalkung schon in Celloidin eingebetteter Objekte ist die Salpetersäure (das Genauere s. oben) und übrigens auch die schweflige Säure durchaus geeignet.

Entpigmentierung.

Zur Entfernung des Pigments aus Schnitten bedient man sich entweder starker Oxydationsmittel, oder Reduktionsmittel (Bleichen), oder man löst das Pigment auf.

Zum ersten Zwecke verwendet man das Chlor in statu nascendi, welches man so gewinnt, dass man einige Kristalle von chlorsaurem Kalium mit 2—3 Tropfen Salzsäure übergiesst und sobald sich das Chlor zu entwickeln anfängt, 70 %igen Alkohol darüber giesst. In dieser Lösung bleiben die Schnitte 1 bis 2 Tage. Oder man benutzt zur Oxydation die Chlorsäurelösung (von Merck zu beziehen), welche man nach Mayer so verwendet, dass man 2 ccm der Lösung 15 ccm 95 %igen Alkohols hinzufügt und die Schnitte bei 42° 10 Stunden hierin liegen lässt; oder man oxydiert mit Wasserstoffsuperoxyd (3—10 %ige Lösung) oder dergl.

Zur Reduktion verwendet man hauptsächlich eine konzentrierte Lösung der schwefligen Säure in Alkohol.

Zur Lösung des Pigmentes werden am meisten Salzsäure und Salpetersäure in alkoholischer Lösung oder Natronlauge (drei Tropfen der offizinellen Natronlauge auf 15—20 ccm 96 %igen Alkohols nach Rawitz) verwandt.

Man kann das Bleichen oder Entfernen des Pigmentes an Gefrierschnitten, Celloidinschnitten sowie Paraffinschnitten (bei letzteren am besten vor Entfernung des Paraffins) vornehmen und dann nach gründlicher Wässerung färben und wie gewöhnlich weiter behandeln.

Es sei erwähnt, dass man hier und da auch in Osmiumsäure geschwärzte Präparate bleichen muss. Man kann auch hierzu Wasserstoffhyperoxyd oder das Chlor, wie oben angegeben, verwenden.

Entfettung.

Unter Umständen ist es erwünscht, Schnitte oder auch Gewebsstücke vor der Weiterbehandlung ihres Fettes zu berauben. Letzteres z. B. zuweilen vor der Entkalkung mit viel Fettmark versehener Knochen (s. oben). Zum Zwecke der Fettentziehung bringt man Schnitte auf etwa $^1/_4$ - $^1/_2$ Stunde, Stücke auf einen Tag in absoluten Alkohol, dann für dieselbe Zeitdauer in Äther oder Chloroform, dann zurück in den absoluten Alkohol und sodann in dünnen Alkohol und kann sie nunmehr weiter behandeln.

Kapitel VI.

Einbettung.

Haben die vorangegangenen Kapitel die Fixierung, Härtung event. Entkalkung und die Entwässerung der Gewebe dargestellt, so können wir nunmehr annehmen, dass unsere Gewebsstücke sich jetzt in absolutem Alkohol befinden, und wir müssen sie nun weiter behandeln. Sie sind jetzt geeignet, in ein „Intermedium" (Mayer) zu gelangen und sodann in das Einbettungsmaterial, wo sie von einer Substanz durchdrungen werden sollen, welche ihre einzelnen Teile erhält und ebenso die Lage ihrer Elemente gegeneinander und sie mit einer Schutzlage desselben Materials umgibt, sodass sie und letzteres gleichzeitig eine Konsistenz haben, welche die geeignete ist, um dünne Schnitte auf dem Mikrotom herzustellen.

Von den verschiedenen Einbettungssubstanzen kommen zum allgemeinen Gebrauch nur zwei in Betracht:

I. Das Celloidin.

II. Das Paraffin.

Es ist sehr schwierig, eine dieser Substanzen mehr als die andere zu empfehlen, da aber jede von beiden Vorzüge und Nachteile hat, so soll man in der Anwendung beider vollständige Übung besitzen. Trotzdem ist es nicht zu leugnen, dass fast ein jeder, welcher viel mikroskopiert, sich mehr an das eine oder an das andere Verfahren gewöhnt und somit in der Regel für allgemeine Zwecke das eine bevorzugt und das andere nur für spezielle Untersuchungen übrig lässt. So ist in einem Institute die Celloidinmethode die vorherrschende, in einem anderen die Paraffinmethode, und diejenige Methode, mit der der einzelne gewöhnlich arbeitet, ist für ihn, da er mehr Übung in ihr besitzt, die handlichere, und so ist fast jeder geneigt, derjenigen Methode, welche er selbst bevorzugt, besondere Vorzüge einzuräumen. Wir sehen hieraus, dass beide Methoden in ihrer Beurteilung im allgemeinen auch der subjektiven Momente nicht entbehren

und dass man bei beiden, wenn man sie nur hinreichend beherrscht, zu allgemein vorzüglichen Resultaten gelangen kann, dass man daher beide vollständig gelernt haben soll.

Nur einige der mehr objektiven Unterschiede zwischen beiden sollen hier angeführt werden.

Die Paraffinmethode hat den Vorteil grösserer Schnelligkeit, hingegen verlangt die Celloidinmethode weniger sorgfältige Überwachung, denn selbst wenn man die Stücke zu lang im Celloidin liegen lässt, ist dies weniger gefährlich und verändert die Gewebe weniger stark, als ein zu langes Liegen im warmen Paraffin oder gar unregelmäßige Regulierung der Temperatur bei letzterem.

Zur Paraffinmethode wird ein genau einstellbarer und eingestellter Ofen benötigt; ein Apparat, welcher bei der Celloidinmethode wegfällt, so dass diese hierdurch besonders für denjenigen sich einfacher gestaltet, dem ein Laboratorium nicht zur Verfügung steht Zugleich liegt hierin ein Vorteil für die Celloidinmethode, denn da bei ihr Hitze nicht angewandt wird, ist Überhitzung mit ihren Schädlichkeiten, welche bei der Paraffinmethode auftreten können, ausgeschlossen.

Grosse Schnitte lassen sich leichter mit der Celloidinmethode als mit der Paraffinmethode herstellen. Andererseits gelingen nach Einbettung in Celloidin keine so feinen Schnitte, wie sie nach der Paraffinmethode möglich sind. Ist dies für viele Fälle in der Tat ein erheblicher Nachteil, so hat es in vielen anderen Fällen, besonders allgemeiner Diagnosenstellung sogar direkt Vorteile, keine allzu dünnen Schnitte zu verwenden. Hierbei soll noch bemerkt werden, dass gerade dickere Celloidinschnitte häufig ein unveränderteres Bild der Gewebe erscheinen lassen, als dünnere Paraffinschnitte, insbesondere da bei den letzteren etwas Schrumpfung kaum zu vermeiden ist. Infolge dieser letzteren geben denn auch härtere Gewebe und vor allem solche, welche spröde werden, wie insbesondere Muskulatur, bei der Paraffineinbettung viel schwieriger grössere Schnitte als beim Celloidinverfahren.

Die Celloidinschnitte sind einfacher in der Weiterbehandlung, da sich bei den meisten Methoden das Celloidin nicht mitfärbt (nur wegen der sauren Reaktion des Celloidins mit stark basischen Farben) bezw. die Farbe leicht wieder abgibt und somit die Schnitte mit dem Celloidin weiter behandelt werden können, während dies bei den Paraffinschnitten nur bei der Anwendung mancher Färbemethoden möglich ist, die Paraffinschnitte im allgemeinen aber dem Objektträger angeklebt werden müssen, um mit diesem zusammen weiter behandelt zu werden. Werden die Blöcke in toto durchgefärbt, was aber bei der pathologisch-histologischen Technik nur sehr selten angewandt wird, so bettet man besser in Paraffin ein.

Ein noch erwähnenswerter Vorteil des Celloidins ist seine Durchsichtigkeit, so dass der Block mit blossem Auge beim Schneiden kontrolliert werden kann, während dies beim undurchsichtigen Paraffin nicht der Fall ist.

Die Paraffineinbettung ist vorteilhaft, wenn sehr dünne Schnitte hergestellt werden sollen, besonders zur Erkennung feinster Zellstrukturen; ferner wenn man die Schnitte so wie so auf Objektträger aufkleben muss, weil es sich um einzelne Teile handelt, welche sich sonst leicht voneinander lösen würden und wenn Serienschnitte angelegt werden sollen.

In den anderen Fällen ziehe ich die Celloidinmethode als diejenige vor, welche weniger eingreifende Veränderungen im Gewebe setzt und bei welcher die Schnitte nachher leichter behandelt werden können. Auch bei ihr ist ein Aufkleben der Schnitte, eventl. zur Anfertigung von Serienschnitten, sehr leicht bewerkstellbar.

Es soll noch bemerkt werden, dass einige wenige Färbemethoden nur für die Celloidin-, andere nur für die Paraffinmethode angegeben worden sind und nur bei Anwendung der vorgeschriebenen Einbettung gelingen.

I. Celloidineinbettung.

Das käufliche Celloidin (Schering) ist ein ganz reines Dinitrat der Cellulose, also chemisch mit dem Kollodium identisch. Es kommt in gelatineartigen durchsichtigen Tafeln in gut schliessbaren Blechbüchsen in den Handel. Zu histologischen Zwecken wird es in kleine Würfel geschnitten, getrocknet (unter Staubabschluss) und in Alkohol absolutus und Äther ana zu einer durchsichtigen Flüssigkeit gelöst.

Zur Herstellung der Lösung verwendet man ein gut schliessbares Gefäss mit weitem Hals. Man gibt zunächst die getrockneten Celloidinwürfel hinein, übergiesst mit vollständig reinem absolutem Alkohol und rührt die in demselben weich werdenden Celloidinblöcke gut um. Nach 24 Stunden, wenn das Celloidin gut weich und schlüpfrig geworden ist, setzt man dieselbe Menge Äther (wie man absoluten Alkohol verwendet hat) zu und rührt wiederum gut um. Nach 24 Stunden Stehen rührt man wiederum gut um. Nunmehr ist das Celloidin gelöst und die Lösung gebrauchsfertig. Damit aber das Celloidin sich nicht mehr am Boden als oben in der Flüssigkeit ansetzt, muss man die Lösung häufig schütteln. Am besten stellt man sich drei verschieden dicke Lösungen her. Etwa eine 2 prozentige als dünne Lösung, eine 3 prozentige als mittlere und eine 6—10 prozentige als dicke Celloidinlösung. Man kann sich auch die dünne aus der dicken dadurch herstellen, dass man letztere mit Alkohol-Äther verdünnt.

Zur Einbettung soll man kleine Stücke aus dem absoluten Alkohol zunächst in ein Gemisch von absolutem Alkohol und Äther zu gleichen Teilen als „Intermedium“ auf etwa 24 Stunden einlegen. Sie kommen dann auf mindestens einen Tag in die dünne und auf mindestens ebenso lange in die dicke Celloidinlösung. Steht mehr Zeit zur Verfügung, so ist es besser, auch ein mittleres zu verwenden und event. mit einem noch dünneren zu beginnen und vor allem in jeder Celloidinlösung nicht nur einen Tag, sondern 3—4 Tage das Objekt liegen zu lassen.

Neumayer empfiehlt, die Gefässe mit dem Celloidin und dem Objekt in den Exsikkator zu stellen, welcher am Boden Kupfersulfat und Alkoholäther enthält. Die Dämpfe des letzteren füllen den Raum aus und verhindern es so, dass die Celloidinlösung sich trübt (feuchtes Wetter). Zugleich erhält sich die Konzentration der Celloidinlösung gut.

Nachdem das Objekt wie beschrieben mindestens einen Tag im dicken Celloidin gelegen hat, kann es so „montiert“ werden, dass es in das Mikrotom zum Schneiden eingesetzt werden kann. Am einfachsten ist folgendes Verfahren:

Man nimmt ein Stück Kork oder besser einen Block aus Holz, welcher so zurecht geschnitten ist, dass er in die Mikrotomklammer eingesetzt werden kann. Das Holz soll, um von seiner Gerbsäure befreit zu werden, nach Kochen in 2 %iger Sodalösung längere Zeit in einem Gemisch von Äther und Alkohol gelegen haben. Zum Gebrauch muss die Oberfläche des Holzklotzes gut getrocknet sein. Man bringt zunächst auf die Oberfläche des Holzklotzes dickes Celloidin und legt sodann das Gewebsstück mittels der Pinzette aus dem dicken Celloidin in dickes Celloidin eingehüllt, darauf und ordnet es mit der Pinzette in der Ebene an, in welcher Schnitte geführt werden sollen. Sodann umgibt man das Objekt allseitig mit Hilfe der Pinzette mit dickem Celloidin und lässt es nun an der Luft etwas trocknen („Verhärtung“), solange, bis ein leichter Fingereindruck (nicht Nageleindruck) nicht mehr in das Celloidin eindringt. Sodann legt man den Block, d. h. also das Holz plus dem darauf befindlichen in Celloidin eingeschlossenen Objekt zum „definitiven Härten“ des Celloidins in 70—80 %igen Alkohol (der letztere wird vor allem von Busse und Lee empfohlen). Nach 3—24 Stunden wird in ihm der Block hart. Statt des Alkohols kann man auch reines wasserfreies Chloroform zum Härten des Blockes benutzen. Um die Objekte mit dem Celloidin besser auf dem Holzblock während des Aufklebens festzuhalten, sodass das Celloidin nicht auf den Seiten herablaufen kann, kann man neben das Objekt einige Stecknadeln mit dem Kopf nach oben in das Holz einbohren und um den Holzblock einen Streifen Papier, welcher den Block noch überragt, herumziehen. Nach der Härtung werden Nadeln und Papier entfernt. Statt der Holzblöcke sind auch Blöcke aus Vulkanit

und Stabilit empfohlen worden. Sehr gut verwendbar sind auch Glasklötze, welche vor den Holzklötzen den Vorteil haben, dass sie keine Gerbsäure enthalten.

Während die bisher beschriebene Methode die einfachste und schnellste ist, ist es, wenn Zeit zur Verfügung steht, vorzuziehen, das Celloidin durch allmähliche Verdunstung des Alkohol-Äthers nach und nach hart werden zu lassen, wodurch es besser schneidbar wird. Man erreicht dies indem man den Celloidinblock unter einer Glasglocke aufstellt und ebenfalls unter die Glasglocke neben den Celloidinblock ein Fläschchen mit Chloroform aufstellt. Der Äther-Alkohol entweicht dann langsamer, dementsprechend wird natürlich der Celloidinblock langsamer halbfest, und auch bei diesem Verfahren wird er, wenn er die nötige Konsistenz hat, zur vollständigen Härtung in 70—80 %igen Alkohol übertragen.

Hat man viel Zeit zur Verfügung und will besonders sorgfältig einbetten, so ist das folgende Verfahren empfehlenswert:

Man füllt ein kleines, oben offenes Glasgefäss mit dickem Celloidin und legt das aus dem dicken Celloidin kommende Gewebsstück mit der zu schneidenden Oberfläche nach unten hinein. Man lässt nunmehr die Oberfläche des Celloidins gerade hart werden. Die gallertige Masse löst man dann mit einem Messer etwas von der Wand des Glasgefässes, indem man mit dem Messer dicht an der Wand des Glases herum schneidet, und wenn nun die ganze Masse die Konsistenz hat, dass sie einen Fingerdruck nicht mehr zulässt (s. oben) giesst man 70—80 %igen Alkohol darüber. Nachdem in diesem das Celloidin gut hart geworden ist, giesst man den Alkohol ab, umschneidet das ganze Stück, nimmt es aus dem Gefäss heraus und schneidet sich einen Block, welcher das ganze Gewebsstück enthält, zurecht. Diesen kann man direkt mit Hilfe einiger Tropfen dicken Celloidins in der Mikrotomklammer befestigen, oder besser man klebt diesen Celloidinblock auf einen Holzklotz (oder Glasklotz) auf, indem man auf den gut getrockneten Holzklotz einige Tropfen dicken Celloidins bringt und auf dieses den an seiner Unterfläche getrockneten Celloidinblock anpresst. Nach einigen Minuten legt man das ganze in etwa 80 %igen Alkohol und Holzblock und Celloidinblock halten nun gut zusammen.

Es soll erwähnt werden, dass ausser auf den schon beschriebenen, für Celloidin eingerichteten Mikrotomen der Celloidinblock mittels des Gefrierverfahrens geschnitten werden kann. Man muss zu diesem Zweck durch langes Wässern aus dem gehärteten Celloidinblock den Alkohol entfernen (bis der Block im Wasser untersinkt), ihn dann mit dickem Gummi auf der Gefriermikrotomplatte anbringen und gefrieren. Dieses Verfahren ist jedoch keineswegs empfehlenswert.

Man kann die Celloidinblöcke entweder in 70 %igem Alkohol aufheben, den man aber, um durch die doch noch etwa aus dem Holz stammende Gerbsäure die Färbbarkeit des Gewebes nicht zu beein-

trächtigen, besser von Zeit zu Zeit wechselt, oder man hebt die Celloidinblöcke trocken auf, indem man sie nach Apathy mit einer Decke geschmolzenen und dann erstarrten Paraffins bedeckt. Die Holzklötze kann man mit Nummern etc. markieren. Weigert empfiehlt hierzu den „Negro"-Bleistift, dessen Substanz sich nicht im Alkohol löst.

Sollen kleine Gewebsstücke sehr schnell in Celloidin eingebettet werden, z. B. zur Schnelldiagnose operativ entfernten Materials, Kurettements etc., bei denen, wie oben angegeben, die Gefriermethode meist versagt, so wendet man am besten folgende Celloidin-Schnellmethode an:

1. Sehr kleine Stücke werden entweder frisch oder besser nach Formol- oder Alkoholfixierung in reines Aceton im Brütofen bei 37 Grad auf $^1/_2$ bis 1 Stunde eingelegt.

2. Übertragen derselben direkt in dünnes Celloidin 4—5 Stunden bei 37 Grad Celsius.

3. Einlegen in dicke Celloidinlösung 2—3 Stunden.

4. Langsames Eintrocknenlassen mit Hilfe der Chloroformmethode (s. oben) und sodann

5. Einlegen auf einige Stunden in 70—80 %igen Alkohol.

Der Block ist nunmehr schnittfähig. Auf diese Methode gelingt es, in etwa 24 Stunden Schnitte herzustellen.

Steht eine mittlere Zeit zur Verfügung, so kann man durch Abkürzung der oben für die Celloidineinbettung angegebenen Zeit, aber doch nach dem allgemeinen Verfahren in etwa 4 Tagen gut schneidbare Blöcke erhalten. Man verfährt dann etwa folgendermaßen:

1. Kleine frische Stücke werden in 96 %igen Alkohol für 24 Stunden eingelegt.

2. Härten und vollständiges Entwässern in absolutem Alkohol ebenfalls 24 Stunden,

3. Alkoholäther 2—3 Stunden,

4. Mitteldicke Celloidinlösung 24—48 Stunden (davon am besten die letzten 12 Stunden dickes Celloidin),

5. Herstellen des Blockes auf einem Holzklotz mit dickem Celloidin, einige Minuten an der Luft trocknen lassen,

6. Härten des Celloidinblockes in 70 %igem Alkohol 2—3 Stunden. Der Block ist nunmehr schnittfähig.

Statt des Celloidins kann man auch das Photoxylin verwenden, welches zwar etwas durchsichtiger wie das Celloidin ist, im übrigen aber vor diesem keine besonderen Vorzüge geniesst.

Die Anwendung ist dieselbe wie die des Celloidins.

II. Paraffineinbettung.

Wird bei der Celloidineinbettung das Gewebe in ein Medium eingeschlossen, welches nach Verdunstung seines Lösungsmittels hart wird, so handelt es sich bei dem Paraffin um ein Medium, welches in der Wärme flüssig, in der Kälte fest ist.

Zum Schmelzen des Paraffins ist also ein Ofen nötig, welcher auf einer ziemlich gleichmäßigen Temperatur erhalten werden muss; geringer Zug oder Änderung des Gasdruckes können das Paraffin überhitzen und durch zu hohe Temperaturgrade die Gewebe schädigen; andererseits kann die Temperatur fallen und das Paraffin erstarren, sodass der Prozess des Eindringens der Flüssigkeit in das Objekt verhindert wird. Wir brauchen deshalb unbedingt einen genau regulierbaren und exakt eingestellten Paraffinofen, wie er sich im allgemeinen nur in Laboratorien vorfindet. Einfach und früher viel gebraucht war das sogenannte Neapler Modell. Weit vorzuziehen sind die grösseren Apparate, vor allem von Lautenschläger-Berlin.

Das Paraffin hält man sich am besten in zwei verschiedenen Sorten, etwa zu 45° und zu 56° Schmelzpunkt vorrätig. Durch Mischung beider kann man sich leicht Paraffin von jedem gewünschten mittleren Schmelzpunkt herstellen. In der Regel ist ein solches von etwa 51—54° gut anwendbar. Bei hoher Sommertemperatur benötigt man härteres, z. B. von 56—58° Schmelzpunkt. Der Thermoregulator des Paraffinofens soll 1—2° höher, als der Schmelzpunkt des Paraffins ist, einstehen.

Das zu schneidende Gewebsstück, welches nicht zu gross sein soll, muss sehr gut entwässert sein, exakter als bei der Celloidineinbettung, und zwar ebenfalls in absolutem Alkohol oder in Azeton bezw. Anilinöl (s. unten). Wenn vollständig entwässert, wird das Gewebsstück in reines Xylol übertragen; sollten in diesem noch weisse Wolken aufsteigen, so war die Entwässerung des Stückes keine vollständige, und dieses muss zur vollständigen Entwässerung erst nochmals in absoluten Alkohol zurückgebracht werden. Die Stücke bleiben im Xylol, bis sie unter vollständigem Verdrängen des Alkohols vollständig durchsichtig geworden sind („Entalkoholisierung"). Hierzu werden in der Regel 2 bis 3 Stunden benötigt. Ein zu langes Verweilen der Stücke in Xylol lässt sie leicht zu hart und spröde werden. Sind die Stücke vollständig durchsichtig, was man auf schwarzem Untergrund prüft, so gelangen sie aus dem Xylol in eine Mischung von Paraffin und Xylol, und zwar von soviel Paraffin, als das Xylol bei etwa 37° löst. Hierin bleiben die Stücke etwa 2 Stunden bei 37° C. (diese Temperatur herrscht auf dem auf etwa 55° eingestellten Paraffinofen oben darauf), sodann werden die Stücke in den Ofen in ein Gefäss mit geschmolzenem Paraffin über-

tragen. Das Paraffin kann man vorher, um allen Schmutz aus ihm zu entfernen, dekantieren oder filtrieren (letzteres im Ofen).

Hierin bleiben die Stücke 1—2 Stunden, sodann kommen sie in ein anderes Gefäss, mit eben solchem neuen Paraffin ebenfalls für 1 bis 2 Stunden, und wenn es nötig ist, noch in ein drittes eben solches. Am besten verwendet man als erstes Paraffinbad ein solches von 46 bis 48° Schmelzpunkt, als zweites ein solches von 51—54° und event. als drittes ein noch etwas härteres. Nunmehr sind die Gewebsstücke so weit, um in den Paraffinblock zum Schneiden eingeschlossen werden zu können.

Die Gewebsstücke werden dadurch in einer festen Lage in das Paraffin eingeschlossen, dass das flüssige Paraffin durch plötzliches Abkühlen zum Erstarren gebracht wird. Man verfährt hierbei am besten folgendermaßen:

Man nimmt ein kleines Glasschälchen, z. B. Glasblockschälchen, und fettet dessen Boden und Rand mit Fett oder Glyzerin ein, um so später die Entfernung des erstarrten Paraffins leichter zu gestalten. Zu demselben Zweck kann man auch kleine Papierkästchen, z. B. diejenigen, in welchen die Deckgläschen in den Handel kommen, verwenden, oder kleine eiserne Kammern, welche durch Verstellung der Wand kleiner oder grösser gemacht werden können. Sehr praktisch sind die mehrere derartige Kammern darstellenden und durch Verschieben grösser und kleiner gestaltbaren eisernen Einbettungsrahmen, wie sie von Gaylord angegeben, von Becker in Göttingen zu beziehen sind.

In ein derartig vorbereitetes Glasschälchen oder Papierkästchen, oder in den Einbettungsrahmen wird nun etwas flüssiges Paraffin hineingegossen; mit einer am Bunsenbrenner leicht erwärmten Pinzette bringt man die Gewebsstücke in dieses flüssige Paraffin hinein und zwar in die gewünschte Lage, so zwar, dass die Ebene, in welcher die Schnitte beginnen sollen, nach unten liegt, und durch Aufgiessen von flüssigem Paraffin füllt man Schälchen, Kästchen oder Rahmen vollständig. Sobald ein leichtes Häutchen geronnenen Paraffins an der Oberfläche erscheint, taucht man das Schälchen, Kästchen oder den Einbettungsrahmen, letzteren samt seiner Unterlage aus Glas, sofort und plötzlich in eine Schale mit kaltem Wasser. Das plötzliche Erstarren des Paraffins ist nötig, damit der Block eine gut schneidbare Konsistenz erhält, sonst wird er zu spröde. Sobald das Paraffin vollständig hart ist, kann es aus dem Wasser entfernt werden. Man befreit nun den Block, falls er sich nicht schon von selbst gelöst hat und an die Oberfläche geschwommen ist, aus dem Kästchen, Schälchen oder Einbettungsrahmen und kann nun, indem man das überflüssige Paraffin an allen Seiten abschneidet, einen Paraffinblock von gewünschter Grösse und Form erhalten. Man soll stets rings um das Gewebsstück einen breiten Paraffinrand stehen

lassen. Dieser Block ist nun fertig zum Schneiden und kann entweder direkt in das Mikrotom eingeschaltet werden, oder man befestigt besser auch diesen Paraffinblock ebenso, wie wir es bei den Celloidinblöcken beschrieben haben, auf einen Holzblock. Man braucht hierzu nur mit einem heissen Messer eine ganz dünne Schicht von Paraffin an der Unterfläche des Paraffinblockes zu schmelzen, nun an den Holzblock anzupressen und in Wasser zu werfen. Die ganz kleine Menge geschmolzenen Paraffins erstarrt, und der Paraffinblock sitzt fest auf dem Holzblock, sodass man letzteren in das Mikrotom einspannen kann. Da das Paraffin undurchsichtig ist, muss man sich die Lage des Objektes und dessen einzelne Teile, bevor man sie in das Paraffin einschliesst, gut merken. Sollte der Paraffinblock milchig aussehen, so ist das Xylol etc. nicht ganz aus ihm entfernt. Da er sich dann nicht gut schneiden würde, muss man am besten in Paraffin zurückbringen und den Block von neuem machen. Enthält der Block Luftblasen, so entfernt man sie am besten unter Schonung des Objekts mit einer heissen Nadel.

Während dies die Paraffineinbettungsmethode in ihrer häufigsten Verwendung ist, sollen einige Modifikationen nunmehr besprochen werden, welche von Wichtigkeit sein können. Zum Entwässern empfiehlt Pavlow statt des Alkohols Kreosot (Kreosotum fagi 4—24 Stunden, dann reines Kreosot 2—3 Stunden). Mit Filtrierpapier soll dann der Überschuss abgesaugt und in Xylol oder direkt in das Paraffin übertragen werden. So soll die Schrumpfungswirkung des Alkohols vermieden werden.

Da das Xylol die Objekte häufig recht hart und spröde zum Schneiden macht, kann man dasselbe als Intermedium gut durch andere Stoffe ersetzen. Zunächst sei hier das Chloroform und Benzol genannt.

Das Chloroform lässt ein besseres Eindringen des Paraffins zu, sodass die Stücke nicht zu lang in dem heissen Paraffin zu liegen brauchen. Zur vollständigen Entfernung des Chloroforms soll man aber doch besser zwei verschiedene Paraffine benutzen. Empfehlenswert ist auch folgende Methode:

Nachdem die Objekte gut mit dem Chloroform durchtränkt sind, erwärmt man das die Gewebsstücke enthaltende Chloroform auf den Schmelzpunkt des Paraffins, also auf etwa 52°, und tut Stückchen Paraffin, welche in der Wärme geschmolzen werden, solange hinzu, bis keine Gasblasen mehr aufsteigen, d. h. bis alles Chloroform bei der Erwärmung entwichen ist. Durch diese allmähliche Verdrängung des Chloroforms durch Paraffin wird die Schrumpfung der Gewebe sehr verringert. Nachdem die Gewebe nunmehr noch einige Zeit in reinem geschmolzenem Paraffin gelegen haben, können sie eingebettet werden.

Verwendet man Benzol als Intermedium, so wechselt man dieses nach Mayer ein- oder zweimal und setzt dann dem Benzol soviel Paraffin hinzu, als sich bei gewöhnlicher Temperatur löst; nachdem die Stücke hierin einige Stunden gelegen haben, stellt man diese Flüssigkeit mit den Gewebsstücken in einem offenen Gefäss in ein kaltes Wasserbad und erhitzt letzteres auf gegen 60°; hierbei verdampft das Benzol, und man giesst geschmolzenes Paraffin nach, bis zum Schluss das Objekt in reinem geschmolzenem Paraffin liegt. Hierin bleibt das Objekt einige Zeit, es wird dann nochmals in reines Paraffin übertragen und dann eingebettet.

Benzol ist besonders zu empfehlen, wenn in Osmiumsäure zur Darstellung von Fett fixiert worden ist. Das Benzol löst die fettigen Substanzen weit weniger schnell als Xylol.

Empfehlenswert ist ferner, besonders auch für brüchige Substanzen, die Verwendung von Zedernholzöl als Intermedium. In ihm lässt man die Stücke etwa 24 Stunden und kann sie dann in eine kaltgesättigte Lösung von Paraffin in Chloroform übertragen, erwärmt sie, nachdem man sie erst einige Zeit hierin im Kalten stehen liess, in diesem Chloroform-Paraffin 2—3 Stunden auf 60°, überträgt sie in reines Paraffin und bettet sie ein.

Ein ausgezeichnetes (von Heidenhain empfohlenes) Intermedium ist auch der Schwefelkohlenstoff. Er löst mehr Paraffin als Xylol und dringt gut ein; ferner mischt er sich gut mit Alkohol. Man überträgt daher die Gewebsstücke am besten aus dem absoluten Alkohol zunächst in ein gleichteiliges Gemisch von absolutem Alkohol und Schwefelkohlenstoff, dann in reinen Schwefelkohlenstoff, sodann in eine warm gesättigte Paraffinlösung in Schwefelkohlenstoff und endlich in reines Paraffin. In der Wärme des Paraffinofens verflüchtigt sich der Schwefelkohlenstoff leicht. Auszusetzen an der Benutzung des Schwefelkohlenstoffes ist sein Geruch und seine leichte Entzündlichkeit. Aus ersterem Grunde verschliesse man die den Schwefelkohlenstoff und seine Mischungen enthaltenden Flaschen gut, aus letzterem Grunde vermeide man das Umschütteln.

Bei allen diesen Intermedien wechselt man am besten einmal, um den Alkohol, aus welchem die Gewebe meist kommen, ganz zu entfernen; ganz allgemein dringen die Intermedien in der Wärme besser als in der Kälte ein.

Sehr gut schneidbar ist das überhitzte Paraffin nach Graf Spee. Man kocht Paraffin über freier Flamme im Abzug 6—24 Stunden, d. h. bis es honiggelb gefärbt ist (am besten ein Gemisch von Paraffin von 45° und 55° Schmelzpunkt).

Noch besser als die Celloidineinbettung eignet sich die Paraffineinbettung, wenn grosse Eile geboten; ist das Paraffinverfahren schon

an sich weit kürzer als das Celloidinverfahren, so lässt ersteres noch weit schnellere Methoden zu, sodass gerade dies Paraffinverfahren für Granulationen, Curettements etc., welche nicht auf dem Gefriermikrotom geschnitten werden können, zur schnellen Diagnosenstellung sehr geeignet ist. Für Praktiker steht diesem Verfahren leider nur die Benötigung eines leicht thermoregulierbaren Ofens im Wege.

Ganz Vorzügliches leistet die Schnellmethode nach Lubarsch.

Man verfährt folgendermaßen:

1. Kleine höchstens $^1/_2$ cm dicke Stücke werden in 10 %igem Formol unter 2 maligem Wechseln 10—15 Minuten fixiert.

2. Übertragen der Stücke in etwa 95 %igen Alkohol (einmal wechseln) 5—10 Minuten.

3. Absoluter Alkohol (2 mal wechseln) 10 Minuten.

4. Einlegen in vollständig reines Anilinöl, bis die Stücke vollständig durchsichtig werden, 10 Minuten bis $^1/_2$ Stunde.

5. Einlegen in Xylol (2—3 mal wechseln bis das Xylol sich nicht mehr gelb färbt) 10—15 Minuten.

6. Einlegen in geschmolzenes Paraffin $^1/_2$—1 Stunde.

Während aller dieser Vorgänge wird die betreffende Flüssigkeit mit dem Gewebsstück im Paraffinofen bei 50 Grad gehalten, sodass alle Reagentien bei dieser Temperatur einwirken. Die ganzen Manipulationen vom Einlegen des Gewebsstückchens bis zum fertig gefärbten, zum Mikroskopieren geeigneten Schnitt können somit in 2—3 Stunden vollendet sein.

Das Anilinöl wird auch sonst mit Vorteil verwendet, da es das Gewebe davor bewahrt im Paraffin zu spröde zu werden. Besteht bei dem Gewebsstückchen diese Gefahr nicht, so kann man auch das Anilinöl bei der obigen Schnellmethode auslassen, muss dagegen das Xylol länger einwirken lassen und wechseln.

Neuerdings ist zur Entwässerung auch das Aceton sehr empfohlen worden. Es wird bei der Schnellmethode von Henke und Zeller verwandt. Diese wird folgendermaßen vorgenommen:

1. Kleine Gewebsstücke werden auf $^1/_2$ bis 1 Stunde in reines Aceton gebracht, grosse Stücke brauchen natürlich längere Zeit.

2. Übertragen der Stücke direkt in flüssiges Paraffin von 52 bis 56 Grad Schmelzpunkt im Ofen für $^1/_2$—$1^1/_2$ Stunde; das Aceton verdampft, das Paraffin dringt in das Gewebe ein. Das Paraffin wird am besten einmal gewechselt.

3. Herstellen des Paraffinblockes, Schneiden.

Steht mehr Zeit zur Verfügung, so kann man in Formol vorfixieren und event. zwischen dem Aceton und Paraffin ein Intermedium (Xylol, Benzol, Chloroform) einschieben. Das Aceton ist überhaupt zur vollständigen Entwässerung in Verbindung mit dem Paraffin-

verfahren sehr geeignet. Nur darf man die Gewebsstückchen in ihm nicht lange liegen lassen. Durch ausgeglühtes Kupfersulfat hält man das Aceton, so wie beim absoluten Alkohol beschrieben, wasserfrei. Zu demselben Zweck des Entwässerns ist auch Pyridin empfohlen worden.

Andere Einbettungsmethoden als Celloidin und Paraffin werden seltener gebraucht. Hier soll die Seifen-Glyzeringelatine nur erwähnt werden. Seltener verwandt wird auch die Methode, welche ein kombiniertes Celloidin-Paraffinverfahren darstellt. Entweder man bettet das Gewebsstück zunächst in Celloidin ein, überträgt es sodann (ev. nach Lösung des letzteren in Chloroform) bis zur vollständigen Durchsichtigkeit in Origanumöl, sodann in Xylol (oder Benzol) und in Paraffin, oder man wendet zur Einbettung nach Field und Martin eine Lösung an, welche sowohl Paraffin wie Celloidin enthält.

Besonders erwähnt werden soll noch das Formol-Gelatineeinbettungsverfahren nach Wright. Es zeichnet sich durch Einfachheit und Schnelligkeit aus, ist aber durch die Schnelleinbettungsmethoden, besonders die Paraffinschnellmethode, ziemlich überflüssig geworden. Nach diesem Verfahren kommen kleine Stückchen in eine 20 %ige, warme, wässrige Lösung von reiner Gelatine. Nach einiger Zeit lässt man die Gelatine gerinnen und wirft die geronnene Gelatine mit dem Gewebestückchen in 4 %ige wässrige Formollösung auf 24 Stunden. Hierin wird die Gelatine wasserunlöslich. Im Kühlraum geht die Erstarrung der Gelatine, im Paraffinofen (bei 50°), die Einwirkung des Formols (nachdem man das Formol in der Kälte zunächst eine Stunde einwirken liess), besonders gut vor sich. Der auf diese Weise gewonnene Gelatineblock kann auf dem Gefriermikrotom geschnitten werden.

Die Anwendung des von Bolton und Harris empfohlenen gleichzeitig zum Härten und Einbetten dienenden warmgelösten Formolagars (5 % bei 60—70°) hat mir keine guten Resultate gegeben.

Kapitel VII.

Das Schneiden.

Sowohl für die Celloidinblöcke wie für die Paraffinblöcke (s. voriges Kapitel) braucht man zur Anfertigung dünner Schnitte eigene feine Apparate, sogenannte Mikrotome.

Die alten Zylindermikrotome sind vollständig durch die Schlittenmikrotome verdrängt. Die Objektklammer ist an diesen nach allen Seiten beweglich; in ihr wird der Block fixiert. Das Objekt wird entweder von unten nach oben durch eine Mikrometerschraube gehoben, sodass feine Schnitte hergestellt werden können, oder der das Objekt tragende Schlitten wird auf einer schiefen Ebene durch feines Verschieben mittels einer Mikrometerschraube gehoben. Das Messer wird mit seinem Schlitten, auf dem es befestigt ist, entweder mit der Hand oder durch mechanische Übersetzung bewegt. Ausgezeichnete Mikrotome werden von Schanze-Leipzig, Jung-Heidelberg, Becker-Sartorius-Göttingen etc. hergestellt. Ich bevorzuge das erstgenannte Mikrotom. Im allgemeinen sind die mittleren Mikrotome den sehr grossen vorzuziehen. Sie sind sehr handlich, und das Schneiden gestaltet sich einfacher als auf den grossen komplizierten.

Für Paraffinserien und -bänder sind die Minotschen Mikrotome, bei welchen das Messer feststeht, das Objekt gegen das Messer bewegt wird, sehr empfehlenswert. Für besonders grosse Objekte, z. B. Gehirn wird das sogenannte Tauchmikrotom verwandt.

Die Mikrotommesser müssen stets vor dem Gebrauch, in einem Handgriff, in dem sie befestigt werden können, auf einem Streichriemen abgezogen werden. Von Zeit zu Zeit müssen sie beim Mechaniker neu geschärft werden. Alles was die Schneide verletzen könnte, wie Pinsel, Präpariernadel etc. muss von ihr ferngehalten werden. Sehr gute Messer können von Walb in Heidelberg bezogen werden.

Was die Schnittdicke im allgemeinen angeht, so lassen sich von Paraffinblöcken leicht Schnitte von 5 μ und darunter erzielen. Beim Celloidinverfahren wird man in der Regel solche von 10—15 μ erlangen.

Sind auch dünne Schnitte im allgemeinen für Strukturfeinheiten vorzuziehen, so haben auch dickere Schnitte ihre Vorzüge. Sie sind besonders für Übersichtsschnitte geeignet, insbesondere zur Darstellung mancher Substanzen wie Fett und haben den Vorzug leichterer Weiterbehandlung.

1. Celloidinschnitte.

Der Celloidinblock wird in der Regel feucht geschnitten. Man muss das Messer sowohl wie den Block gut befeuchten und zwar mit 70—80 %igem Alkohol, entweder mittels eines weichen Haarpinsels oder indem man eine Spritzflasche mit Alkohol verwendet. Das Messer soll möglichst längs durch das Präparat hindurchgeführt werden. Es wird hierbei auch am besten ausgenutzt. Messer und Mikrotomschlitten bilden also einen sehr spitzen Winkel miteinander. Naturgemäß muss aber das Messer die ganze Oberfläche des Blockes angreifen können. Die Schnitte werden von dem Messer in 70 %igen Alkohol übertragen und zwar mittels eines Pinsels oder einer Präpariernadel, oder am besten mit dem Finger (z. B. dem kleinen Finger). Der Finger schont die Messerschneide am besten. Sollte sich der Schnitt rollen, was aber beim Celloidin weit seltener als beim Paraffin der Fall ist, so glättet man ihn noch während des Schneidens auf dem Messer mittels eines Pinsels. Frische Celloidinblöcke lassen sich im allgemeinen leichter als länger aufbewahrte schneiden.

In seltenen Fällen wird der Celloidinblock auch trocken geschnitten. Man härtet dann den Celloidinblock in Chloroform, überträgt ihn in Chloroform-Zedernholzöl und dann in reines Zedernholzöl. Dann kann, da der Block durch das Zedernholzöl weich erhalten wird, trocken geschnitten werden.

Die Celloidinschnitte werden in der Regel unaufgeklebt mit dem Celloidin weiterbehandelt; in seltenen Fällen auch, nachdem zunächst das Celloidin gelöst wird. (Alle Details siehe im nächsten Kapitel.) Man kann aber auch Celloidinschnitte auf Objektträger festkleben und mit diesen weiter behandeln (s. unten unter Celloidinserienschnitten).

II. Paraffinschnitte.

Der beschnittene, am besten auf einem Holzklötzchen befestigte Paraffinblock wird in der Mikrotomklammer fixiert. (Bei den Minotschen Mikrotomen muss der Paraffinblock mittels etwas geschmolzenen Paraffins direkt auf dem Objekthalter befestigt werden.)

Das Messer soll beim Schneiden des Paraffinblockes im allgemeinen quer zu dem Block gestellt und so durch ihn durchgezogen werden. Hier und da ist es aber empfehlenswert, das Messer nicht quer, sondern schräg zu stellen. Es wird trocken geschnitten. Paraffinschnitte rollen sich nun sehr leicht zusammen. Man kann dies verhüten, indem man während des Schneidens den Schnitt mit der linken Hand mittels eines

feinen Pinsels glättet; am besten gelingt dies, wenn man vor jedem Schnitt den Block leicht anhaucht oder ganz leicht mit einem erwärmten Metallspatel erwärmt. Auch sind eigene Schnittstrecker konstruiert worden. Paraffinschnitte gelingen häufig besser, wenn schnell durch das Objekt durchgezogen wird. Je härter das Paraffin ist, desto dünnere Schnitte lassen sich im allgemeinen anfertigen, doch soll man das Paraffin nicht von höherem Schmelzpunkt als nötig ist wählen.

Die Schnitte werden mittels eines Pinsels, einer Präpariernadel oder einer Pinzette direkt von dem Messer (Achtung, damit die Schneide nicht verletzt wird) auf einen Objektträger übertragen oder zunächst in warmes Wasser (45 Grad Celsius) bezw. auch in 70%igen Alkohol gebracht (s. nächstes Kapitel).

Paraffinschnitte müssen in der Regel auf Objektträger aufgeklebt werden, um mit diesen weiter behandelt zu werden. Man kann sie statt dessen, wenn es sich nur um Einzelschnitte handelt, z. B. für Kurszwecke, auch auf Deckgläschen oder Glimmerplatten aufkleben. Dass man Paraffinschnitte auch unaufgeklebt mit dem Paraffin oder nach dessen Lösung weiter behandeln kann, soll hier nur erwähnt werden. (Wegen aller Details s. das nächste Kapitel.)

In der Regel also werden Paraffinschnitte aufgeklebt. Hierzu stehen folgende Methoden zur Verfügung:

1. Kapillarattraktionsmethode. Man bringt die vom Messer abgenommenen Schnitte in Wasser, welches auf etwa 45° gehalten wird (d. h. einige Grad unter dem Schmelzpunkt des Paraffins); gerollte Schnitte breiten sich auf dem Wasser sofort aus. Die Schnitte sollen von dem Messer so auf das Wasser gebracht werden, dass die Fläche des Schnittes, welche direkt auf dem Messer also nach unten lag, auch im Wasser nach unten zu liegen kommt. Die Schnitte werden nun mit dem warmen Wasser auf Objektträger gebracht, sei es mit Hilfe eines Spatels, sei es (besser), indem man einen gut (am besten mit Kaliseife unter der Wasserleitung) gereinigten Objektträger direkt in das warme Wasser führt, und so den Schnitt auffängt. Den Objektträger zieht man, damit das Wasser sich auf ihm gut ausbreitet, vorher mit der zu beschickenden Fläche nach unten 2—3 mal durch den Bunsenbrenner (Helly). Man lässt dann das überflüssige Wasser von dem Objektträger ablaufen und legt den Objektträger, auf welchem sich nunmehr in etwas Wasser der Schnitt oder eventl. die Schnitte befinden, jetzt auf etwa 12 Stunden in den Brütofen bei 37°. Hierbei werden die Schnitte dem Objektträger fest adhärent.

Manche Autoren ziehen das Wasser, welches zwischen Objektträger und Schnitt sich befindet, dadurch schneller aus, dass sie eine alkoholbefeuchtete Lage Fliesspapier darüber breiten und 3—4 mal mit dem Finger leicht anpressen. Das Filtrierpapier wird sodann von einer Ecke aus langsam abgezogen und der Objektträger mit den Schnitten zum vollständigen Trocknen kurze Zeit oben auf den Paraffinofen gelegt.

Ist grosse Eile nötig, so kann man auch die Schnitte auf dem Objektträger einfach durch Anpressen trockenen Fliesspapiers antrocknen, dann den Objektträger mit den Schnitten leicht über der Flamme erwärmen, bis das Paraffin eben zu schmelzen anfängt, trocken werden lassen und sofort weiter behandeln.

Ist genügend Zeit zur Verfügung, so ist die zuerst beschriebene Kapillarattraktionsmethode mit Verwendung des Brütofens auf jeden Fall den beiden zuletzt genannten Modifikationen vorzuziehen. Diese Kapillarattraktionsmethoden haben den Vorzug, jedes Klebemittel zu vermeiden. Manche Präparate aber, besonders nach Härtung in Chromsäure und ihren Gemischen, haften dem Objektträger nicht sicher genug fest an.

2. Aufklebungsmethode mittels Glyzerinleims (Mayer). Der hierbei benötigte Glyzerinleim wird folgendermaßen hergestellt:

Man schlägt das Weisse eines Eies, filtriert, gibt zu diesem Filtrat dieselbe Masse Glyzerin und fügt noch einen Kristall Karbolsäure oder Thymol, oder zu je 100 gr der Mischung 1 gr salyzilsaures Natrium hinzu.

Oder man verdünnt das Weisse eines Eies allein (etwa 20 ccm) auf 100 ccm mit Wasser und setzt eventl. das Antiseptikum hinzu. Mit dieser Eiweisslösung lässt sich eine dünnere Schicht erzielen, die sich kaum mitfärbt.

Einen Tropfen einer solchen Klebeflüssigkeit bringt man auf den Objektträger und verreibt ihn auf diesem so fein, dass ein fast unsichtbarer Hauch übrig bleibt. Hierauf bringt man nun den oder die Schnitte ebenfalls mit der auf dem Messer nach unten zu gelegenen Fläche auch auf den Objektträger nach unten und glättet die Schnitte auf dem Objektträger leise mit einem Pinsel. Der Objektträger mit den Schnitten wird nun bis etwa 12 Stunden in den Brütofen bei 37° eingestellt. Das Eiweiss gerinnt, die Schnitte haften fest.

Tut grosse Eile not, so kann man auch hier statt des Einlegens in den Brütofen den Objektträger mit dem Schnitt mehrfach kurz durch die Flamme ziehen und somit die Koagulation bewirken, doch ist dies weniger empfehlenswert.

Diese Methode hat den Nachteil, ein Klebemittel zu verwenden, welches sich manchmal bei den späteren Färbeprozessen mitfärbt. Man soll das Eiweissglyzerin daher dünner ausstreichen als es der Anfänger in der Regel wagt. Dagegen hat die Methode den Vorteil sehr festen Haftens der Schnitte.

3. Kombinationen der Kapillarattraktions- und der Eiweissglyzerinmethode. Man verreibt hierbei das Glyzerineiweiss ebenfalls fein auf dem Objektträger, koaguliert das Eiweiss über der Flamme und bringt entweder warmes Wasser (45°) darauf und den Schnitt direkt in das auf dem Objektträger stehende warme Wasser, oder man bringt die Schnitte zunächst wie bei der Methode 1 in ein Glasschälchen mit warmem Wasser und zieht sie nun auf den mit

Eiweissglyzerin bestrichenen Objektträger auf. In beiden Fällen entfernt man den Überschuss an Wasser von dem Objektträger und legt diesen mit den Schnitten auf 12 Stunden in den Brütschrank bei 37° ein.

Diese Kombinationsmethode wird auch als „japanische Methode" bezeichnet. Sie hat natürlich denselben Nachteil wie Methode 2, doch halten die Schnitte hier am allerfestesten und glätten sich zugleich sehr gut. Ich ziehe daher diese Methode im allgemeinen den beiden anderen vor.

Handelt es sich um dickere, gut ausgebreitete Schnitte oder schaden ein paar Fältchen nichts, so ist Methode 2, welche etwas weniger umständlich und schneller ist, gut anwendbar. Methode 1 hat den Nachteil, dass sich die Schnitte manchmal, besonders nach Härtung in Chromsäuremischungen (Müllersche Flüssigkeit), loslösen, ist dagegen vorzuziehen bei Färbemethoden, bei welchen die Klebflüssigkeit sich mitfärben würde.

Serienschnitte.

Diese bestehen aus einer langen und ununterbrochenen Aufeinanderfolge von Schnitten. Schnitt für Schnitt wird in der richtigen Reihenfolge auf Objektträger oder besser grössere Glasplatten (s. Seite 15) übertragen, um zusammen mit diesen weiter behandelt zu werden. Es handelt sich somit bei diesen Methoden darum, Mittel zu finden, dass die Schnitte am Glas haften. Eine Vorbedingung ist eine vollständige Reinheit und Fettfreiheit der zur Verwendung kommenden Gläser. Zu diesem Zweck bürstet man sie am besten zunächst mit Seife gründlich ab, wässert sie tüchtig und legt sie sodann in Alkohol und Äther. Statt der grossen Deckgläschen kann man bei Serienschnitten die auf Seite 15 erwähnten Glimmerplättchen benutzen.

Bei Serienschnitten wird im allgemeinen das Paraffinverfahren bevorzugt.

I. Paraffinserienschnitte.

Es können hierzu die drei oben erwähnten Methoden zum Aufkleben von Paraffinschnitten verwendet werden, doch eignet sich die Methode 1, da bei ihr die Schnitte leicht los gehen, weniger; Methode 2 und besonders 3 hingegen sehr gut.

Man überträgt dann naturgemäß auf den Objektträger oder besser auf die grossen Gläser nicht nur einen Schnitt, sondern eine ganze Reihe in bestimmter Reihenfolge. Vor dem Einlegen in den Brütofen bezeichnet man sich die Platte.

Jedoch sind auch eigene Methoden für Paraffinserienschnitte angegeben worden.

Methode von Strasser:

Er stellt sich Papiergummikollodiumplatten her und zwar folgendermafsen:

Streifen Papiers werden zunächst mit einer Lösung Gummi arabicum, welche etwa $^1/_5$ Volumen Glyzerin enthält, bestrichen und sodann des weiteren mit einer Kollodiumlösung ungefähr von der Konsistenz des Glyzerins, welcher $^1/_{100}$ Volumen Rizinusöl zugesetzt ist. Die Schnitte werden auf solche Streifen in folgender Flüssigkeit aufgezogen:

Celloidin 2 Teile,
Äther 2 Teile,
Rizinusöl 3 Teile.

Diese Streifen mit den Schnitten werden $^1/_2$ Stunde in Benzin oder Terpentin, für 15 Minuten in Chloroform und endlich mehrere Minuten lang in 95%igen Alkohol übertragen. Das Kollodium mit den Schnitten wird jetzt von dem Papier dadurch frei gemacht, dass man in Wasser einlegt, worin sich der Gummi löst; so ist das Kollodiumhäutchen mit den Schnitten zur Weiterbearbeitung fertig.

Ein anderes Verfahren ist von Schmorl angegeben worden.

Er bestreicht Objektträger mit folgender Flüssigkeit:

Kandiszuckerlösung (1 : 1) 300 ccm.
80%iger Alkohol 200 ccm,
Dextrinlösung (1 : 1), (gelbes Dextrin) 100 ccm.

Die Zucker- und Dextrinlösungen müssen in kochendem destilliertem Wasser hergestellt werden.

Paraffinschnitte werden auf den sorgfältig gereinigten Objektträger bzw. die Glasplatte in dieser Lösung gebracht und ganz leicht erwärmt, ohne dass das Paraffin schmelzen darf, damit sich die Schnitte glätten und ausbreiten. Überflüssige Lösung lässt man vorher in die Flasche zurückfliessen, sodass eine dünne gleichmäfsige Schicht Flüssigkeit die Glasplatte bedeckt. Die Platte mit den Schnitten wird nun auf 3—6 Stunden in den Brütofen zu 37° gebracht, wo die Zucker-Dextrinschicht durch Verdunsten des Alkohols vollständig hart wird. Sodann wird die Platte in Xylol, oder Chloroform, oder Terpentinöl für 10—15 Minuten, sodann für 10 Minuten in absoluten Alkohol, welcher einmal gewechselt werden soll, übertragen. Man lässt nun den Alkohol ablaufen und giesst eine dünne Celloidin- bzw. Photoxylinschicht:

Celloidin- oder Photoxylin 10 gr,
Alkohol absolut. 100 ccm.
Äther 100 ccm,

über die Schnitte. Nachdem diese Lage erstarrt ist (nach 1—2 Minuten) ritzt man das Kollodiumhäutchen an drei Rändern der Platte mit dem Messer ein und legt die Platte in lauwarmes Wasser. Das die Schnitte umschliessende Kollodiumhäutchen löst sich hier von der Glasplatte ab und haftet ihr nur noch an der Seite, an welcher nicht geritzt wurde, fest. Man kann nun weiter färben und behandeln etc., dabei muss man natürlich absoluten Alkohol vermeiden (s. unten), und hebt die Platte am besten immer so aus den Reagentien heraus, dass man sie stets an dem Rande, an welchem das Häutchen noch festhängt, zuerst herausnimmt, so dass sich das Häutchen immer glatt auf die Glasplatte auflegt.

Es soll noch erwähnt werden, dass die Minotschen Mikrotome, bei welchen sich Bänder schneiden lassen, Paraffinserien erleichtern.

II. Celloidinserienschnitte.

Hier ist das vorherrschende Verfahren dasjenige von Weigert, welches zuerst für das Zentralnervensystem angegeben wurde.

Bei diesem Verfahren wird der sehr sauber geputzte (s. oben) Objektträger oder die grössere Glasplatte mit einer besonders dünnen Celloidinschicht übergossen. Durch Neigen der Glasplatte lässt man das Celloidin in dünner Schicht über die Glasplatte hinlaufen, giesst den Rest in die Flasche zurück und lässt nun die dünne Celloidinschicht auf der Platte eintrocknen. Des weiteren schneidet man sich dünne Streifen Klosettpapier, welche aber breiter sein müssen als das zu schneidende Objekt. Nun zieht man entweder mit diesem Papierstreifen jeden Schnitt, nachdem er geschnitten wurde und auf dem Messer gerade ausgebreitet liegt, einen nach dem andern von dem Messer herab, sodass die Schnitte in der richtigen Reihenfolge an dem Papier haften. Der Papierstreifen muss hierbei stets mit 70%igem Alkohol feucht gehalten werden. Oder aber man ordnet die Schnitte schon auf dem Messer selbst in die richtige Reihenfolge und zieht sie nun gemeinsam mit dem Streifen Klosettpapier vom Messer ab. Die Schnitte müssen, um leicht vom Messer abgezogen werden zu können, nahe an dessen Schneide gerückt werden. Man legt einen mit 70%igem Alkohol befeuchteten, aber nicht zu nassen Klosettpapierstreifen auf die Schnitte auf das Messer auf, drückt ihn durch leichtes Überstreifen mit dem Finger leicht an und zieht nun, indem man den Streifen über die Messerschneide ziemlich plötzlich abzieht, die Schnitte mit ab. Nun überträgt man die Schnitte sofort (in beiden obigen Fällen) auf den celloidinierten Objektträger, indem man den Streifen in der richtigen Reihenfolge auf die celloidinierte Platte auflegt, leicht mit dem Finger durch Darüberstreifen niederdrückt und nun von einem Ende aus den Papierstreifen abzieht, so zwar, dass die Schnitte auf der Platte haften, ganz in der Art, wie die Kinder Abziehbilder herstellen. In diesem Fall müssen die Schnitte auch auf der celloidinierten Platte mit 70%igem Alkohol ganz leicht feucht gehalten werden, damit sie nicht eintrocknen können, bis man den nächsten Streifen darauf gebracht hat. Dies setzt man so lange fort, bis die Platte ganz beschickt und zum Weiterbearbeiten fertig ist. Oder aber man hebt sich die mit den Schnitten versehenen Papierstreifen zunächst auf und zwar, damit sie feucht bleiben, so, dass man den Klosettpapierstreifen mit den Schnitten nach oben auf einige Lagen Filtrierpapier mit einer Schicht Klosettpapier, die mit Alkohol befeuchtet sind, auflegt, und zieht die Schnitte erst dann auf die Glasplatte auf, wenn genügend Klosettpapierstreifen vorhanden sind, um die ganze Glasplatte zu beschicken. Naturgemäß muss man sich die richtige Reihenfolge der Schnitte, um Serien herzustellen, sofort merken. Man gewöhnt sich am besten eine bestimmte Reihenfolge an, indem man z. B. links oben auf der Glasplatte beginnt, die Streifen alle wagrecht auf die Glasplatte auflegt und rechts unten sich die Glasplatte markiert, sodass man immer weiss, dass der letzte Schnitt der dieser Markierungsstelle

benachbarte, der erste aber der in der umgekehrten Ecke nach oben in der Diagonale gelegene ist.

Beim ersten Ordnen der Schnitte auf dem Messer muss man den ersten Schnitt möglichst weit nach oben auf das Messer schieben und so weiter. Natürlich kann man nicht mehr Schnitte auf dem Messer ordnen als der nötige Abstand vom benachbarten Schnitt gestattet, damit beim Schneiden eines neuen Schnittes derselbe nicht mit einem bereits auf dem Messer gerade ausgebreiteten kollidiert. Man legt die Schnitte und ihr Celloidin mit Hilfe eines feinen Pinsels, der mit 70%igem Alkohol befeuchtet ist, schon auf dem Messer ganz glatt und parallel, sodass sie die Lage, die sie hier einnehmen, auch später auf der celloidinierten Platte beibehalten. Leichtes Ordnen ist auf letzterer mit Hilfe eines Pinsels oder einer Präpariernadel, da man die Platte zunächst noch feucht hält, naturgemäß auch noch möglich.

Auf diese Weise hat man nun die celloidinierte Platte mit einer fortlaufenden Serie von gut geordneten Celloidinschnitten beschickt und zwar in leicht feuchtem (70%iger Alkohol) Zustand. Man trocknet nun die Platte, indem man eine mehrfache Schicht von Filtrierpapier darüber breitet und leicht andrückt, und giesst dann möglichst schnell, sodass die Schnitte möglichst kurz trocken liegen, eine zweite Schicht dünnen Celloidins über die Schnitte und die Glasplatte. Diese lässt man etwas eintrocknen und bringt nun die Platte in 80%igen Alkohol, in welchem das Celloidin fest wird. Jetzt kann man die Schnitte auf der Glasplatte weiter behandeln. Oder man legt die Platte in Wasser oder eine wässerige Farbflüssigkeit, dann löst sich das Celloidinhäutchen mit den Schnitten und kann ohne die Glasplatte weiter behandelt werden.

Bei den weiteren Prozeduren muss man natürlich die für Celloidinschnitte nötigen Vorsichtsmaßregeln, wie sie im nächsten Kapitel angegeben werden, befolgen.

Es ist bei dem Weigertschen Verfahren wesentlich eine ausserordentlich dünne Lösung von Celloidin in Alkoholäther ana zu verwenden. Man stellt sich dieselbe her, indem man die zur Einbettung vorrätige dünne Celloidinlösung noch bedeutend mit Alkoholäther verdünnt.

Bietet die Weigertsche Methode den Vorteil sicheren Einschlusses der Schnitte in eine Celloidinschicht von beiden Seiten, also in eine doppelte solche, so hat sie nur den Nachteil eben dieser doppelten, d. h. etwas dicken Celloidinschicht, die bei manchen Färbungen etwas hinderlich ist.

Diesen Nachteil versuchen die folgenden Methoden zu umgehen.

Methode von Dimmer:

Er bedeckt die Objektträger mit einer Gelatineschicht, die er sich so herstellt, dass er sich 16 gr Gelatine in 300 ccm Wasser löst. Auf diese Schicht werden nach dem

Trocknen der Gelatine die Schnitte ganz genau so übertragen, wie nach dem Weigertschen Verfahren. Ist nun die Platte fertig beschickt und wird in Wasser zu 50° übertragen, so löst sich die Gelatineschicht, und das Celloidinhäutchen mit den Schnitten schwimmt frei im Wasser und kann weiter behandelt werden. Natürlich sind die Schnitte nun nur in eine sehr dünne Celloidinschicht eingeschlossen.

Dasselbe, wie das Dimmersche Verfahren, erreicht ein von Obregia angegebenes, welches statt mit der Gelatine der Dimmerschen Methode den Objektträger mit der schon bei dem Paraffinverfahren erwähnten Zucker-Dextrinlösung (Schmorl) beschickt. Man lässt die Objektträger mit einer dünnen Schicht dieser Lösung im Brütofen trocknen und bringt sodann die Schnitte darauf. Giesst man nun eine dünne Celloidin- oder Photoxylinschicht darüber, lässt diese erstarren und überträgt das Ganze in Wasser, so löst sich, ganz wie bei dem Dimmerschen Verfahren die Gelatine, so hier die Zuckerschicht, und die Schnitte, nur in eine Celloidinschicht eingeschlossen, werden mit dieser frei.

Andere Verfahren erreichen ebenfalls die Möglichkeit einer dünnen Celloidinschicht und gleichzeitiges Festhalten dieser an der Glasplatte, indem sie ähnlich wie beim Paraffinverfahren Eiweissglyzerin als Klebemittel verwenden.

Von den verschiedenen hier angegebenen Methoden hat sich mir folgendes Verfahren dauernd bewährt:

Man überzieht eine Glasplatte mit einer ganz dünnen Lage von Eiweissglyzerin, ganz so wie bei dem Paraffinverfahren angegeben, und lässt dieses event. durch Durchziehen durch den Bunsenbrenner koagulieren. Die Schnitte werden auf dem Messer geordnet und in der von Weigert erdachten Art mittels Streifen von Klosettpapier oder besser dickerem Filtrierpapier, ganz wie oben beschrieben, abgezogen und auf den mit dem Eiweissglyzerin beschickten Objektträger übertragen. Mit mehrfachen Lagen Filtrierpapier trocknet man nunmehr die Platte und übergiesst sie sofort mit absolutem Alkohol und, bevor dieser verdunstet (man kann aber den Überfluss von Alkohol fast ganz abgiessen), mit Äther. Man braucht nicht zu warten oder soll sogar nicht warten, bis dieser verdunstet ist, sondern nach etwa 3 Minuten lässt man durch Schräghalten der Platte den überschüssigen Äther abfliessen, ohne aber durch vollständiges Abfliessen des Äthers die Schnitte trocken zu legen. Jetzt wird die Platte auf etwa $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde in 70%igen Alkohol eingelegt und man kann nunmehr die Platte mit den aufgeklebten Schnitten weiter behandeln.

Bei diesem Verfahren wird das an den Schnitten selbst befindliche Celloidin in dem Alkoholäther gelöst und über die ganze Glasplatte verteilt; durch Verdunsten des Alkohols und Äthers ist somit die ganze Glasplatte von einer dünnen Celloidinschicht bedeckt, welche im 70%igen Alkohol hart wird und mit den Schnitten infolge des Klebemittels der Glasplatte fest anhaftet. Es ist klar, dass bei diesem Verfahren die Schnitte in einem ganz dünnen Celloidinhäutchen festliegen. Es ist nur während der Manipulationen darauf zu achten, dass der absolute Alkohol

und der Äther nie ganz verdunsten, sodass die Schnitte nie ganz trocken liegen; und ferner, dass die Schnitte beim Übergiessen des Äthers, in dem das Celloidin sich löst, nicht wegschwimmen; man verhütet dies, indem man die Platte ganz wagrecht legt.

Statt des Eiweissglyzerins empfiehlt v. Tellyesniczky das Weisse eines Eies in 100 ccm destilliertes Wasser zu schütten und zu filtrieren, weil dies eine dünnere Lage, als das gewöhnliche Eiweissglyzerin, herstellen lassen soll (s. auch oben S. 72).

Rubaschkin bringt die Schnitte aus 70%igem Alkohol auf mit Eiweissglyzerin bestrichene Objektträger und entfernt den Überfluss an Alkohol, bringt sodann Nelkenöl und Anilinöl ana (Nelkenöl 2 Teile, Anilinöl 1 Teil nach Dantschakoff) darauf, bis die Schnitte vollständig durchsichtig sind (3—5 Minuten), entfernt die Öle in dreimal zu wechselndem 96%igem Alkohol und überträgt in 70%igen Alkohol. Jetzt halten die Schnitte fest, auch nach Lösen des Celloidins.

Maier benutzt keinen Klebestoff, er übergiesst die aufgezogenen Schnitte mit 1 Teil Nelkenöl, 9 Teilen Alkohol abs. für etwa 1/2 Minute, lässt die Flüssigkeit vorsichtig ablaufen, lässt etwa 1 Minute die Platte so liegen (damit sich die erweichten Schnitte gut anlegen) und übergiesst mit Alkohol-Äther. Wenn dieser zum Teil (nicht ganz) verdunstet ist, werden die Platten mit Schwefelkohlenstoff (etwa 15 Minuten in zugedeckter Schale stehen lassen) übergossen, mehrfach mit 96%igem Alkohol gewaschen, dann in 70%igen Alkohol und Wasser übertragen.

Olt verwendet seine Gelatinemethode (s. S. 31) in ähnlicher Weise wie für Gefrierschnitte auch für Celloidin- und Paraffinschnitte.

Sollen Serienschnitte von schon durchgefärbten Celloidinblöcken angefertigt werden, so ist die Methode von Langhans empfehlenswert. Man befeuchtet nach dieser das Messer während des Schneidens mit Origanumöl und bringt die Schnitte auf einen Objektträger, den man ebenfalls mit einer dünnen Lage desselben Öls beschickt hat. Infolge der Mischung des Öls und des 70%igen Alkohols (wegen des Wassergehaltes des letzteren) werden die Schnitte zunächst milchig, dann aber ganz klar; sie werden mit Filtrierpapier getrocknet und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Ist diese Methode auch sehr einfach, so wird sie eben doch seltener angewandt, da ja beim pathologisch-histologischen Arbeiten wenigstens eine en bloc-Färbung selten möglich ist. Schmorl benutzt, um die erwähnte milchige Trübung zu verhindern, zum Feuchthalten des Messers während des Schneidens statt des reinen Origanumöls eine Mischung von drei Teilen Origanumöl auf einen Teil absoluten Alkohol.

An der Hand von Serienschnitten ist durch Zeichnen jeden Schnittes und die Plattenmodelliermethode ein Mittel gegeben, plastische Rekonstruktionen von Objekten vorzunehmen. Einzelheiten s. bei Peter „Die Methoden der Rekonstruktion", Jena, Fischer, 1906.

Kapitel VIII.

Weiterbehandlung der Schnitte. Aufhellung. Einschliessen.

Die gewonnenen Schnitte, sei es vom uneingebetteten Objekt mittels des Gefrierverfahrens, sei es vom Paraffin- oder Celloidinblock mittels der grösseren Mikrotome, müssen nun weiter behandelt werden. Zweck dieser weiteren Manipulationen ist, einzelne Zellstrukturen schärfer hervorzuheben, indem man sie färbt. Die folgenden Kapitel sollen von diesen Färbungsprozeduren handeln.

Die Schnitte müssen nun, wenn sie gefärbt sind oder auch für den seltenen Fall, dass man sie ungefärbt vollenden will, vor dem Einschluss entwässert werden und zwar in Alkohol; sie müssen sodann aufgehellt werden in einem Intermedium, als welches gewöhnlich Xylol oder gewisse ätherische Öle dienen und können sodann in Kanadabalsam eingeschlossen werden; jetzt sind die Schnitte erst zum mikroskopischen Untersuchen und dauernden Aufheben fertig.

Da diese verschiedenen Schnitte zwar prinzipiell identisch, aber doch in praxi etwas verschieden an Gefriermikrotom-, Celloidin- und Paraffin-Schnitten vorgenommen werden müssen, wollen wir die Prozeduren für diese dreierlei Schnitte zunächst einzeln besprechen und dann einige für besondere Fälle nötige Vorschriften anhängen.

I. Gefriermikrotomschnitte

oder ähnliche Schnitte, welche etwa mit dem Rasiermesser oder Doppelmesser gewonnen sind, kommen erst nach Färbungen zur vollständigen Entwässerung in absoluten Alkohol, zur Aufhellung in Xylol und werden sodann nach Trocknen mit Filtrierpapier (s. unten) in Kanadabalsam eingeschlossen. In der Regel soll der Kanadabalsam in einem gut verschlossenen mit Glashaube versehenen Gefäss aufbewahrt werden und ein Glasstäbchen in ihn hineinragen, mit dem man leicht einen Tropfen entnehmen kann. Der Tropfen Kanadabalsam soll stets nur so gross sein, dass er den kapillaren Spalt zwischen Objektträger und Deckgläschen mit dem Schnitt direkt ausfüllt. Der Kanadabalsam ist in der Regel in

Xylol gelöst. Er soll eine mittlere Dickflüssigkeit haben. Ist er zu dünn, d. h. in zu viel Xylol gelöst, so verdunstet das Xylol leicht, und es befindet sich somit zu wenig Kanadabalsam zwischen Objektträger und Deckgläschen, sodass der Schnitt leicht trocken liegt und dann verdirbt. Ist der Kanadabalsam umgekehrt zu dick, so breitet er sich zu schlecht unter dem Deckgläschen aus. Sollte also der Kanadabalsam eine zu dicke Konsistenz haben, so kann man ihn durch Zufügen einiger Tropfen Xylol leicht verdünnen. Sollte er umgekehrt zu dünn sein, so kann man ihn durch Offenstehenlassen, d. h. Verdunsten des Xylols, zu der gewünschten Dicke bringen. Luftblasen sollen sich in dem Kanadabalsam zwischen Objektträger und Deckgläschen nicht befinden. Auf das Deckgläschen soll ein direkter Druck nicht ausgeübt werden; doch kann man eine gleichmäßige Beschwerung des Deckgläschens zum Ausbreiten des Kanadabalsams hervorbringen, indem man kleine Bleistückchen, z. B. alte kleine Gewehrgeschosse auf das Deckgläschen aufsetzt und etwa eine Stunde stehen lässt, ohne einen weiteren Druck auszuüben. Durch allmähliche Verdunstung des Xylols wird mit der Zeit der Kanadabalsam gut hart, und nun haften das Deckgläschen unverrückbar am Objektträger und die Schnitte fest zwischen beiden; doch geht dies nur ganz allmählich vor sich, und es dauert hierzu oft Wochen ja Monate. Bis dies geschehen, muss man es vermeiden fertige Präparate aufeinander zu legen, da sie sonst miteinander verkleben würden.

Man lasse die Schnitte nicht zu lange im Xylol (oder Karbol-Xylol s. unten) liegen, da sie sonst leicht zu hart werden. Statt des beschriebenen Kanadabalsams, welcher in Xylol gelöst ist, muss man bei einigen Methoden, bei welchen das Xylol völlig vermieden werden muss, z. B. bei der Nissl-Färbung (s. dort), reinen Kanadabalsam verwenden, welcher durch Erhitzen flüssig gemacht, auf den Objektträger und den Schnitt aufgebracht wird und beim Erkalten wieder fest wird. Bei einigen anderen Methoden, z. B. der Weigertschen Glia-Methode, ist es besser, statt des Kanadabalsams Kolophonium zu verwenden, welches in Terpentinöl gelöst ist. Hierin halten sich viele Färbungen weit besser, im übrigen desgleichen in neutralem Kanadabalsam im Gegensatz zu dem gewöhnlichen, welcher infolge von Oxydationsvorgängen sauer reagiert. (Neutraler Balsam zu beziehen durch Grübler-Leipzig.)

Besondere Vorsichtsmaßregeln, wie bei Paraffin- oder Celloidinschnitten (s. unten) sind also hier bei den Gefriermikrotomschnitten nicht nötig. Immerhin ist es besser, um die starke Schrumpfung, welche Gefriermikrotomschnitte im absoluten Alkohol erleiden können, zu vermeiden, nur in 96%igem Alkohol unvollständig zu entwässern und dann zur gleichzeitigen vollständigen Entwässerung und Aufhellung Karbol-Xylol zu verwenden, wie dies gleich für die Celloidinschnitte noch genauer zu besprechen sein wird.

II. Celloidinschnitte.

Im allgemeinen kann man die auf dem Mikrotom gewonnenen und am besten in etwa 70 %igem Alkohol aufgefangenen Schnitte mit dem Celloidin einzeln färben und weiter behandeln. In der Regel hindert das Celloidin die Färbung nicht, und das Celloidin nimmt selbst keine Farbe an oder gibt sie bei den weiteren Manipulationen wieder ab. Nur muss bei Celloidinschnitten absoluter Alkohol, in dem sich das Celloidin lösen oder wenigstens erweichen würde, vermieden werden. Man muss daher auch Xylol vermeiden, da nur vollständig entwässerte Schnitte in solches gebracht werden können, ohne dass sie einen Niederschlag bilden und infolge dessen zusammenschrumpfen. Der absolute Alkohol wird also vermieden, es werden die Schnitte nach der unvollständigen Entwässerung in 96 %igem Alkohol mit ätherischen Ölen behandelt und zwar mit Bergamott-, Zedern- oder Origanumöl (nicht Nelkenöl, welches Celloidin löst); so werden die Schnitte aufgehellt und können in Kanadabalsam eingeschlossen werden. Da aber die ätherischen Öle manche Nachteile, wie sehr penetranten Geruch etc. haben, ist folgende Methode als Universalmittel (auch für Gefrierschnitte sehr geeignet, s. oben) stets sehr bequem.

Der Schnitt kommt zur unvollständigen Entwässerung in 96 %igen Alkohol und wird sodann in Karbol-Xylol übertragen. Dieses besteht aus 3 Teilen Xylol, 1 Teil geschmolzener kristallisierter Karbolsäure (bei der Zubereitung der Mischung soll man erst das Xylol in den Messzylinder, der am besten vorher leicht erwärmt wird, eingiessen, dann erst die geschmolzene Karbolsäure hinzugeben, sonst kristallisiert die Karbolsäure leicht wieder aus). Das Karbol-Xylol entwässert infolge der hygroskopischen Wirkung der Karbolsäure die Schnitte vollständig, sodass darum die Schnitte, auch wenn sie aus 96 %igem Alkohol, also noch nicht vollständig entwässert, in das Karbol-Xylol kommen, hier doch keine Wasserniederschläge bilden. Es gelingt also so, unter Vermeidung des absoluten Alkohols, die Schnitte direkt aus dem 96 %igen Alkohol in das Karbol-Xylol zu übertragen und sie hier in wenigen Minuten ihres letzten Restes Wasser zu berauben und aufzuhellen. Man zieht sie nun aus dem Karbol-Xylol auf den Objektträger auf und kann sie hier direkt in Kanadabalsam einschliessen, indem man den aufgezogenen Schnitt, um ihn in eine Ebene zu bringen, mit mehreren Lagen völlig trockenen Fliesspapieres durch leichtes Bestreichen trocknet und sofort einen Tropfen Kanadabalsam und auf diesen das gut gereinigte Deckgläschen bringt. Besser aber ist es, um aus den in Karbol-Xylol auf den Objektträger aufgezogenen Schnitten die letzten Spuren von Karbolsäure zu entfernen und somit die Färbung haltbarer zu machen, auf dem Objektträger auf den Schnitt noch reines Xylol zu bringen,

welches, wenn der Schnitt vollständig entwässert ist, jetzt auf ihm keine Wassertrübung mehr erzeugen darf. Jetzt wird wiederum mit Filtrierpapier getrocknet und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Ähnlich wie oben für Celloidinschnitte angegeben, muss unter Vermeidung des absoluten Alkohols das Verfahren mit den ätherischen Ölen oder besser mit Karbol-Xylol natürlich auch bei Celloidinserienschnitten oder wenn man Paraffinschnitte in Celloidinschnitte verwandelt hat, beachtet werden.

Karbol-Xylol muss bei Schnitten, welche mit Anilinfarben gefärbt sind, vermieden werden, da die Karbolsäure solche Farben auszieht. Für diese Fälle ist folgendes Verfahren (Weigert), welches auch sonst oft gute Dienste leistet, empfehlenswert:

Man zieht aus dem 96%igen Alkohol den Schnitt auf den Objektträger auf und fügt Xylol darauf, welches, da der Schnitt nicht vollständig entwässert ist, milchige Trübung zeigt. Nun trocknet man sofort mit Filtrierpapier den Schnitt auf dem Objektträger ab, fügt wieder Xylol hinzu, trocknet wieder, bringt wieder Xylol darauf und setzt dies so lange fort, bis das Xylol gar keine milchige Trübung mehr aufweist, d. h. der Schnitt vollständig entwässert ist. Dann kann in Kanadabalsam eingeschlossen werden. Man hat also an Stelle der chemischen Entwässerung eine teilweise mechanische vorgenommen. Hierbei wie überhaupt soll man es vermeiden, den Schnitt länger als unbedingt notwendig ist, trocken liegen zu lassen.

In manchen Fällen ist es empfehlenswert, die Schnitte, z. B. um sie vor Schrumpfung zu bewahren, wie bei der Weigertschen Fibrinmethode, auf dem Objektträger zu färben und weiter zu behandeln. In diesen Fällen zieht man den Schnitt nach dem Schneiden aus dem 70%igen Alkohol auf den Objektträger auf, trocknet ihn durch leichtes Aufpressen mit Filtrierpapier und behandelt ihn dann weiter. Er hält auf diese Weise in der Regel ziemlich gut. Soll er dem Objektträger für komplizierte Manipulationen fest aufliegen, so klebt man ihn, wie oben bei den Celloidinserienverfahren beschrieben, an den Objektträger fest.

Manchmal ist es empfehlenswert, das Celloidin aus dem Schnitt zu entfernen, besonders wenn es sich in gewissen Anilinfarben mitfärben würde oder mitgefärbt hat. Zu diesem Zweck bringt man die Schnitte, sei es vor, sei es nach der Färbung, aus 96%igem Alkohol in absoluten auf etwa 5 Minuten, sodann in Alkohol-Äther zu gleichen Teilen auf etwa 10 Minuten und hierauf wieder in den absoluten Alkohol. Man kann dann färben etc. oder, wenn dies bereits geschehen, mit Xylol aufhellen und in Kanadabalsam einschliessen. Diese Prozeduren nimmt man am besten, damit der Schnitt nach Entfernen des Celloidins nicht ganz auseinander fliegt, besonders wenn es sich um leicht zerreissliche, dünne Schnitte handelt, auf dem Objektträger selbst vor.

III. Paraffinschnitte.

Wir können hier drei verschiedene Fälle unterscheiden, je nachdem der Schnitt auf den Objektträger aufgeklebt, oder frei mit dem Paraffin, oder frei erst entparaffiniert, weiter behandelt wird.

1. Die Schnitte werden in der oben beschriebenen Weise, sei es einzeln, sei es als Serienschnitte aufgeklebt. Die Objektträger mit den Schnitten gelangen, nachdem sie im Brütofen gelegen haben oder sonst fertig gestellt sind (s. oben) auf 10—15 Minuten zur Lösung des Paraffins in Xylol (statt Xylol kann auch Chloroform benutzt werden), sodann zur Entfernung des Xylols auf 10 Minuten in absoluten Alkohol und werden dann in 80 %igen Alkohol übertragen; von hier aus kann man nun die Färbungs-, Entfärbungs- etc. Methoden vornehmen, und zum Schluss gelangen die Objektträger mit den Schnitten zur vollständigen Entwässerung in absoluten Alkohol, und aus diesem zur Aufhellung in Xylol, wo sich, wenn die Schnitte vollständig entwässert sind, keine milchige Trübung einstellen darf (man beobachte auf dunklem Grund). Wenn die Schnitte vollständig aufgeklärt sind, entnimmt man die Objektträger dem Xylol, trocknet die Schnitte mit mehreren Lagen Filtrierpapier sorgfältig ab und schliesst in Kanadabalsam ein.

2. Man kann auch Paraffinschnitte, ohne sie aufzukleben, mit dem Paraffin färben und weiter behandeln. Man bringt sie von dem Messer in 80 %igen Alkohol, dann in die Farbflüssigkeit, Entfärbungsflüssigkeit etc., entwässert zum Schluss in absolutem Alkohol, hellt in Xylol auf, was man am besten auf dem Objektträger vornimmt, da sich das Paraffin im Xylol löst, und schliesst in Kanadabalsam ein. Man kann aber auch die Schnitte vom Messer direkt in die Farbflüssigkeit bringen, wenn man letztere auf etwa 40 Grad erwärmt hat. Die Schnitte breiten sich in der warmen Farbflüssigkeit vollständig aus und werden dann wie eben angegeben weiter behandelt.

Nicht entparaffinierte Schnitte müssen länger wie andere in den Farbflüssigkeiten etc. liegen bleiben, da die Flüssigkeiten in das Paraffin schwerer eindringen.

Wenn aus irgend einem Grunde Alkohol vollständig vermieden werden muss, so kann man den Paraffinschnitt nach der Färbung und evtl. Entfärbung direkt aus dem Wasser auf den Objektträger aufziehen und im Brütofen bei 37 Grad trocknen, oder dies dadurch bewerkstelligen, dass man den Objektträger mit dem Schnitt öfters ganz schnell durch die Flamme des Bunsenbrenners zieht; sodann bringt man auf den getrockneten Schnitt Xylol (wenn der Schnitt noch nicht völlig entwässert ist und somit im Xylol milchige Trübung erscheint, trocknet man mit Filtrierpapier und bringt wieder Xylol darauf, und so fort,

bis er ganz hell erscheint, wie oben angegeben) und schliesst in Kanadabalsam ein (Schmorl). Besonders in der Bakteriologie ist diese Methode manchmal nützlich.

Es sei bemerkt, dass man Schnitte, wenn sie auf dem Objektträger in Xylol liegen gut mit dem Filtrierpapier trocknen kann, nicht aber solche, welche in absolutem Alkohol liegen, da sie hierbei leicht am Filtrierpapier hängen bleiben.

3. Man kann auch die Schnitte, ohne sie aufzukleben, entparaffinieren und dann weiter behandeln. Dies geht jedoch nur bei ziemlich dicken Schnitten von zusammenhängenden Organen wie Leber, Niere etc. In diesem Fall bringt man die Schnitte direkt in Xylol, in welchem sich das Paraffin löst, sodann zur Entfernung des Xylols in absoluten Alkohol, des weiteren in 80 %igen Alkohol, setzt sie darauf den Manipulationen des Färbens, Entfärbens etc. aus, entwässert zum Schluss in absolutem Alkohol, hellt in Xylol auf, zieht sie auf den Objektträger auf und schliesst in Kanadabalsam ein.

In manchen Fällen kann man Alkohol zur Entwässerung und Xylol zur Aufhellung nicht benutzen – und es gilt dies für Gefriermikrotom- wie Celloidin- und Paraffinschnitte —, so bei Färbungen auf Amyloid oder auf Fett: letzteres würde ja im Alkohol gelöst. Man kann in diesen Fällen also auch nicht in Kanadabalsam einbetten. In diesem Fall bettet man den Schnitt zwischen Objektträger und Deckgläschen in Glyzerin oder Lävulose ein oder in eine konzentrierte wässerige Lösung von Kalium aceticum. Sollen die Schnitte hierin dauernd aufgehoben werden, so muss man das Deckgläschen umranden und zwar mit Wachs oder Paraffin oder besser Asphaltlack; noch besser aber bettet man dann die Schnitte zwischen Objektträger und Deckgläschen in Glyzerin-Gelatine ein; diese bezieht man am besten fertig oder stellt sie z. B. folgendermaßen her:

1 Teil Gelatine,
3 Teile Wasser,
4 Teile Glyzerin.
Kochen und heiss filtrieren.

(Es gibt auch zahlreiche andere, wenn auch ähnliche Vorschriften.)

Dieser Glyzerinleim ist in der Wärme flüssig, in der Kälte starr; man hält ihn sich in einem Reagenzglas vorrätig, welches man leicht über der Flamme des Bunsenbrenners erwärmt, so dass der Leim flüssig wird (je öfters der Leim bereits durch Wärme verflüssigt worden ist, desto leichter wird er selbst bei geringerer Wärme wieder flüssig). Auf den in der Regel aus dem Wasser auf den Objektträger aufgezogenen und mit Filtrierpapier getrockneten Schnitt bringt man mit einem Glasstäbchen einen Tropfen der flüssigen Glyzerin-Gelatine (sie darf hierzu nicht mehr allzu heiss sein) und legt das Deckgläschen darüber. Der

Glyzerinleim breitet sich schnell gleichmäßig zwischen Objektträger und Deckgläschen aus und wird bei dem Kaltwerden starr.

Zum Schluss sollen noch die Manipulationen, welche die Celloidin- und Paraffinschnitte benötigen, kurz und übersichtlich zusammengestellt werden.

Celloidineinbettung, Schneiden, Färben etc.

1. Fixierung der Gewebe in Formol, Müllerscher Flüssigkeit, Zenkerscher Flüssigkeit etc.

2. Wässern 24 Stunden wenn nötig.

3. Nachhärten in 70 %igem Alkohol 24 Stunden, desgleichen in 96 %igem Alkohol 24 Stunden.

5. Härten und vollständiges Entwässern in absolutem Alkohol 24 Stunden (event. länger).

6. Einlegen in Alkohol-Äther 24 Stunden.

7. In dünne Celloidinlösung einen bis mehrere Tage.

8. In dicke Celloidinlösung einen bis mehrere Tage.

9. Herstellen des Celloidinblockes (am besten langsames Verfahren und Aufkleben auf Holz oder Glas).

10. Härten des Celloidinblockes in etwa 80 %igem Alkohol 12 bis 24 Stunden.

11. Schneiden, Auffangen der Schnitte in 70 %igem Alkohol.

12. Färben, Entfärben etc.

13. Entwässern und Aufhellen in 96 %igem Alkohol.

14. Vollständiges Entwässern und Aufhellen in Karbol-Xylol (eventuell in einem ätherischem Öl).

15. Aufziehen auf den Objektträger.

16. Aufhellen in Xylol (eventuell überflüssig).

17. Einschliessen in Kanadabalsam.

Paraffineinbettung. Schneiden. Färben etc.

1—5 genau wie bei der Celloidineinbettung.

6. Aufhellen in Xylol (Chloroform, Zedernholzöl, Schwefelkohlenstoff etc., event. bei 37°) bis das Gewebe durchscheinend ist, meist 2 bis 5 Stunden.

7. Einlegen in Paraffin, gelöst in Xylol (Chloroform, Schwefelkohlenstoff etc.) bei 37° etwa 2 Stunden.

8. Einlegen der Stücke in das erste geschmolzene Paraffin im Ofen 1—2 Stunden.

9. Einlegen desgleichen in das 2. Paraffin im Ofen 1—2 Stunden.

10. Herstellen des Paraffinblockes.

11. Erstarrenlassen desselben durch plötzliches Eintauchen in Wasser.

12. Schneiden event. Aufziehen der Schnitte und Ankleben an den Objektträger.

13. Entparaffinieren in Xylol 10 Minuten.

14. Entfernen des Xylols durch Übertragen in absoluten Alkohol 10 Minuten.

15. Einlegen in 70—80 %igen Alkohol mehrere Minuten.

16. Färben, Entfärben etc.

17. Entwässern in absolutem Alkohol.

18. Aufhellen in Xylol.

19. Einschliessen in Kanadabalsam.

Kapitel IX.

Farben und Färben.

Seit der Erkenntnis, dass verschiedene Strukturbestandteile der menschlichen Gewebe verschiedene Affinitäten zu Farbstoffen haben, hat die Einführung der Farbstoffmethodik in die histologische Technik begonnen und rapide Fortschritte gemacht. Der Zweck der Färbung von Geweben ist, Strukturbestandteile schärfer hervorzuheben oder solche, welche man überhaupt nicht erkennen kann, dem Auge zugänglich zu machen. Einige wenige dieser Färbungen sind auch dadurch von Bedeutung, dass sie direkt mikro-chemische Reaktionen darstellen, und uns somit eine Art qualitativer und bis zu einem gewissen Grad sogar schätzungsweise quantitativer Analyse auf bestimmte Stoffe erlauben. Kommen bei dieser Mikrochemie auch in erster Linie Elemente, wie Eisen etc., in Betracht, so sind auch schon mikro-chemische Reaktionen auf höher organisierte Substanzen, auf Harnsäure, Glykogen und dergleichen erzielt worden.

Erst seit der ersten Hälfte des vergangenen Jahrhunderts verwenden wir die Farben in der histologischen Technik, und zwar handelt es sich im wesentlichen um eine Übertragung der Farben und ihrer Anwendungsweise, welche zum Teil schon seit Jahrtausenden selbst von weniger entwickelten Rassen und erst recht in der hochentwickelten modernen Technik zur Färbung von Wolle, Seide etc., Verwendung finden. Der erste Farbstoff, welcher in der Histologie angewandt wurde, war wohl 1849 das Karmin. Aber erst seitdem, etwa seit 1860, die Produktion von Teer(Anilin)farben ungeahnten Aufschwung genommen hat, ist das gleiche mit der Färbung tierischer Gewebe der Fall. Es wurden die Anilinfarben für unsere Zwecke besonders von Weigert verwendet, und auch die feineren Methoden, wie sie allmählich ausgebildet wurden, knüpfen sich zum grossen Teil an den Namen des Altmeisters histologischer Methodik, Karl Weigert, sowie auch an denjenigen Ehrlichs, dem wir viele theoretisch wichtige Punkte und vor allem die feinste Färbetechnik der Blutuntersuchung verdanken. Unzählig sind die Namen, nach welchen seitdem mitgeteilte Färbe-

methoden oder deren Modifikationen benannt sind. Täglich werden neue angegeben, von denen sich aber stets nur ein Teil bewährt, und es ist in dem vorliegenden Buch nicht möglich alles, sondern nur einen Teil und zwar vor allem diejenigen Methoden anzuführen, welche sich praktisch bewährt haben und zugleich von allgemeinerer Bedeutung sind. So wichtig diese Färbetechnik in der Hand des modernen Histologen und Pathologen geworden ist, muss man sich doch stets bewusst bleiben, nach dem Beispiel vor allem Weigerts und Ehrlichs, dass die Technik nie Selbstzweck sein darf, sondern nur Mittel zum Zweck zur Erforschung neuer Tatsachen und somit zur Mehrung unserer Kenntnisse.

Über den eigentlichen Prozess, welchen die Färbung darstellt, gehen die Meinungen noch weit auseinander. Es sind vor allem zwei Theorien, welche Freund und Feind gefunden haben. Die eine nimmt an, dass es sich (ausser eventuellen physikalischen Faktoren) um eine wirkliche chemische Verbindung handelt, und zwar eine wasserunlösliche zwischen der Substanz der Gewebsfaser und der des Farbstoffes. Für diese Auffassung traten z. B. Ehrlich, Knecht, Burchardt, Nietzki, Heidenhain warm ein. Die andere sieht in dem Färbeprozess nur physikalische Kräfte tätig und bezeichnet die Färbung somit als einen mechanischen Vorgang (sogenannte „Adsorption"). Diese Ansicht vertraten z. B. Gierke, A. Fischer, Rawitz, v. Georgiewics, Spiro etc.

Neuerdings hat die von Witt 1890 aufgestellte Theorie der starren Lösung viele Anhänger gefunden. Es handelt sich hier gewissermaßen um eine zwischen der reinen physikalischen und der reinen chemischen Theorie vermittelnde Ansicht. Die Farbstoffe sollen sich im festen Gewebe so wie in flüssigen Medien lösen: ganz so wie es möglich ist, die Farben aus wässerigen Lösungen mit Hilfe von Alkalien oder Äther auszuschütteln, so sollen die Gewebe die Farben aus ihren wässerigen Lösungen aufnehmen. Es geschieht dies durch dialytische Wirkung. Ist die Löslichkeit des Farbstoffes in der Faser erheblich grösser als in der Flüssigkeit des Farbbades, so werden naturgemäß osmotisch weit mehr Farbstoffmoleküle aus der Flüssigkeit in die Gewebsfaser wandern als umgekehrt, d. h. die Faser färbt sich und zwar mehr oder weniger waschecht. Die gefärbte Faser stellt somit eine starre Lösung des Farbstoffes in der Gewebsfasersubstanz dar. Der Färbeprozess ist demnach ein chemischer Vorgang, und die gefärbte Substanz stellt eine chemische Verbindung dar; diese folgt aber nicht den Molekulargewichten der Substanzen, sondern hängt von schwankenden Verhältnissen, welche herrschen, ab, ganz so wie bei Lösungen im allgemeinen. Doch reicht auch diese Theorie offenbar nicht zur Erklärung aller „Färbungen" aus.

Wegen aller Details der theoretischen Betrachtungen des Färbeprozesses muss hauptsächlich auf den Grundriss der Farbchemie von Pappenheim, die Artikel in der Enzyklopädie von N. O. Witt und Michaelis und das schon öfters zitierte Buch von Gustav Mann verwiesen werden.

Mag sich nun diese oder jene Theorie zur Erklärung des Färbeprozesses bewahrheiten, die praktisch wichtigste Grundlage bleibt auf jeden Fall die Tatsache, dass die tierischen Gewebe bestimmte Affinitäten für Farben und besonders Anilinfarben besitzen, wenn auch unter verschiedenen Bedingungen und mit verschiedener Intensität.

Ganz wie bei der Textilfärbung kann man auch in der Histologie zwei grosse Gruppen von Färbungen unterscheiden. Einmal die substantive oder direkte und sodann die adjektive oder indirekte. Als erstere bezeichnen wir den Vorgang, wenn die Farblösung direkt eine Färbung der Gewebsfaser bewirkt. In der zweiten Gruppe hingegen gelingt dies nicht ohne weiteres, sondern erst wenn eine dritte Substanz mitwirkt. Diese letztere bezeichnen wir als Beize. Sie befähigt erst die Faser zur Aufnahme des Farbstoffes. Die Verbindung zwischen Beize und Farbstoff wird als Lack bezeichnet. Ein solcher Lack muss, um in der Histologie brauchbar zu sein eine feste Verbindung mit dem Gewebe eingehen. Man kann die Beize zuerst auf die Gewebe einwirken lassen und diese dann erst der Farblösung aussetzen oder die Beize mit der Farblösung mischen und zugleich mit ihr auf die Gewebe einwirken lassen.

Eine Reihe von Fixierungsflüssigkeiten dienen wie bereits besprochen gleichzeitig als Beize, was nach Heidenhain darauf beruht, dass die Beizwirkung, zum Teil wenigstens, in der Präzipitation von Eiweiss besteht, und diese Wirkung ja gerade bei der Fixierung in den Fixierungsflüssigkeiten vor sich geht. So sind Chromsäure und Chromsäuregemische gute Beizen. Desgleichen werden Metallsalze vielfach als Beizen verwendet, so die des Eisens oder Kupfers bei Färbungen mit Hämatoxylin. Manche Anilinfarben dienen auch als Beizen für andere. Im allgemeinen kann man sagen, dass saure Beizen geeignet sind zur Lackverbindung mit einem basischen Farbstoff, und basische Beizen für saure Farbstoffe (nur letztere werden in England als Lacke bezeichnet).

In seltenen Fällen dient auch die Beize dazu, färberische Reaktionen nicht herbeizuführen, sondern zu verhindern, so bei der Marchischen Methode. Hier hindert das Kaliumbichromat als Beize, dass sich Markscheiden mit Osmiumsäure färben, während Fett diese Eigenschaft behält, sodass man beide leicht unterscheiden kann (s. dort).

Beim histologischen Arbeiten benutzt man Farben zur Hervorbringung diffuser oder bestimmter, differentieller Färbungen. Ein Teil der Färbungen ist für bestimmte Gewebsbestandteile spezifisch.

Da aber meist mehrere Gewebsbestandteile Affinitäten zu den Farben besitzen, ist die Färbung nur insofern und nur dann eine spezifische zu nennen, wenn nichts mitgefärbt ist, was mit den betreffenden in Frage stehenden Strukturelementen der Form nach verwechselt werden könnte. Wirklich elektiv in dem Sinn, dass ein Gewebsbestandteil von bestimmter chemischer Konstitution und nur dieser färberisch dargestellt wird, sind die wenigsten Färbungen; in diesen Fällen handelt es sich um wirkliche mikro-chemische Reaktionen.

Es sind nun, gestützt auf die Tatsache der verschiedenen Affinitäten der Strukturelemente zu den Farben, zur Erzielung differenzierter oder gar spezifischer bezw. elektiver Färbungen zwei Methoden im Gang:

1. Die progressive Methode; bei ihr wird eine Farbe angewendet so lange, bis bestimmte Gewebsbestandteile, welche besondere Affinität zu der Farbe besitzen, mit ihr gefärbt sind, die anderen noch nicht; dann wird die Färbung abgebrochen.

2. Die regressive Methode; bei ihr werden die Gewebe zunächst mehr diffus überfärbt, und sodann werden die Farben wieder im allgemeinen ausgezogen, während sie an den Strukturelementen mit der grösseren Affinität zur Farbe noch haften. Jetzt wird dieser Prozess, welchen wir als Differenzierung bezeichnen, unterbrochen, sodass nunmehr ebenfalls nur bestimmte Gewebsstrukturen noch gefärbt sind.

Als allgemeines Gesetz kann man den Grundsatz aufstellen, dass Substanzen, welche sich nur schwer färben lassen, die Farbe dann um so fester zurückhalten, ein Punkt, der bei der Färbung auf Tuberkelbazillen (s. dort) von Wichtigkeit ist. Als Differenzierungsflüssigkeiten von Anilinfarben dienen besonders der Alkohol, zuweilen auch Wasser, Anilinöl etc., zumeist aber der Salzsäure-Alkohol und zwar eine Mischung von 100 ccm 70%igem Alkohol mit 1 ccm der offizinellen Salzsäure. Er wird besonders bei basischen Farbstoffen verwandt. Für bestimmte Zwecke dienen andere Differenzierungsflüssigkeiten, so bei manchen Methoden des Zentralnervensystems.

Die regressive Methode hat den Nachteil weniger konstanter Resultate als die progressive Methode, denn ihre Variationsbreite ist naturgemäß viel grösser, hängt mehr von der Dicke der Schnitte, von der Konzentration der Differenzierungsflüssigkeit, der Zeit speziell des Eindringens der letzteren und besonders auch von subjektiven Momenten in der Hand des Histologen ab. Am meisten ist dies der Fall, wenn es sich um besondere Differenzierungen handelt, wobei ein bestimmter Moment zur Abbrechung der Differenzierung zu erhaschen ist, den man dann am besten unter dem Mikroskop verfolgen kann. Andererseits geben aber gerade unsere meisten und besten Methoden gute Resultate

nur bei Anwendung der regressiven Methode, und diese hat zugleich den Vorteil, dass der erfahrenere Arbeiter auch im einzelnen Fall die Färbung mehr nach Belieben regulieren kann.

Haben mehrere Bestandteile des Gewebes verschiedene Affinitäten zu verschiedenen Farbstoffen, so kann jeder mit einer besonderen Farbe dargestellt werden. Wie wir noch genauer sehen werden, liegt dieser Fall in besonders glücklicher Weise bei den Hauptbestandteilen der Zelle vor, nämlich bei dem Kern und dem Protoplasma, indem basische Farbstoffe besondere Affinität zu den Zellkernen, saure Farbstoffe besondere Affinität zu dem Protoplasma besitzen, sodass eine differenzierte Färbung beider besonders leicht gelingt; wir sprechen dann von Mehrfachfärbung. Hier ist es in der Regel besser, eine Farbe nach der anderen einwirken zu lassen, doch kann man sie auch gleichzeitig als sogenannte Farbstoffmischung verwenden. Ein sehr gewöhnliches Beispiel der Kombination erst einer Einfachfärbung und sodann noch einer Doppelfärbung in einem Farblösungsgemisch stellt die zumeist gebrauchte Hämatoxylinfärbung des Kerns in Verbindung mit der van Giesonfärbung des Protoplasmas mit zwei verschiedenen sauren Farbstoffen dar. (Genaueres siehe im nächsten Kapitel.)

Aus dem Besprochenen geht schon die Wichtigkeit hervor, die Farben in basische und saure einzuteilen. Bei der Vereinigung beider bilden sich zuweilen Neutralfarbstoffe, welche auch, da gewisse Strukturen gerade zu ihnen eine besondere Affinität besitzen, eine bestimmte Anwendung fanden, besonders in der Bluttechnik Ehrlichs. Aus der Affinität verschiedener Gewebsbestandteile zu bestimmt reagierenden Farbstoffen konnte man direkt wichtige Schlüsse auf die chemische Zusammensetzung dieser Gewebselemente selbst ziehen.

Es gibt nun auch Fälle, in welchen eine einfache Farbstofflösung bei ihrer Anwendung zwar die Gewebe im allgemeinen in ihrer Eigenfarbe imprägniert, gewisse Gewebsbestandteile aber dadurch, dass diese sich in einer abweichenden Farbe darstellen, hervortreten lässt. Wir sprechen dann von Metachromasie (Ehrlich), und diese ist von Wichtigkeit besonders bei der Darstellung von Amyloid, Schleim, Mastzellengranula etc. geworden. Im allgemeinen resultiert dieser Farbumschlag aus optischen Gründen, indem infolge besonderer chemischer Zusammensetzung der Farbe sich gewisse Gewebselemente mit ihr in einer anderen Farbnüance färben, zuweilen aber beruht diese Erscheinung auch darauf, dass sich selbst in der einfachen Lösung eines Farbstoffes doch noch andere Farbstoffe gewissermaßen verunreinigt in Lösung befinden, für welche nun einige Gewebsbestandteile besondere Affinität besitzen. So färbt sich das Amyloid mit dem Methylgrün

violett, während sich das übrige Gewebe grün darstellt, weil dem Methylgrün Spuren von Methylviolett beigemischt sind und das Amyloid gerade diese an sich zieht. Ähnliches liegt bei dem sogenannten polychromen Methylenblau, welches höhere Oxydationsstufen des Methylenblaus enthält, vor. Es handelt sich also in diesen Fällen nicht um eine eigentliche Metachromasie, sondern mehr um die Anwendung eines, wenn auch zuweilen unfreiwilligen Farbstoffgemisches.

Bei der pathologisch-histologischen Färbetechnik werden im allgemeinen die fertigen Mikrotomschnitte gefärbt, seltener die ganzen Gewebe vor der Einbettung en bloc durchgefärbt. Letzteres ist deswegen selten angebracht, weil man gerade beim Bearbeiten pathologischer Objekte meist sich nicht mit einer Färbung begnügen darf, sondern die verschiedensten Färbungen anwenden muss, und das geht natürlich bei den en bloc vorgefärbten Stücken nicht immer.

Davon, dass man auch Gewebe im lebenden oder überlebenden Zustand färben kann und von der Bedeutung dieser Methode für einige spezielle Zwecke, ist schon die Rede gewesen. Doch ist es fraglich, ob es sich hier um eine wirklich vitale Färbung der Zellen im striktesten Sinne des Wortes handelt

Folgende Punkte wollen wir hier kurz zusammenfassen, da ihre Beobachtung bei den Färbeprozeduren inne gehalten werden muss.

1. Wenn wässrige Lösungen verwandt werden sollen, müssen sie fast stets mit destilliertem Wasser hergestellt werden. Des weiteren müssen sie zumeist sorgfältig filtriert werden, oft gerade vor dem Gebrauch. Die Lösungen sollen weder Niederschläge noch Mikroorganismen enthalten; man setzt ihnen daher häufig kleine Mengen antiseptischer Substanzen wie Kristalle von Thymol, Karbolsäure etc. zu.

2. Zur Darstellung der Farben sollen vollständig reine Farbstoffe verwendet werden. Solche bezieht man am besten von Grübler-Leipzig. Bei der Herstellung der Farblösungen muss man die Vorschriften aufs peinlichste befolgen; insbesondere müssen stets gut gereinigte Gefässe verwendet werden. Es sei erwähnt, dass auch die komplizierten Lösungen von Grübler bezogen werden können, was oft sehr vorteilhaft ist.

3. Manche Farblösungen verlieren ihre Färbungsfähigkeit nach einer bestimmten Zeit. Andere hingegen färben erst gut nach längerem Stehen (Oxydation), was man gewöhnlich als „reifen" bezeichnet, so bei den Hämatoxylinlösungen.

4. Die Schnitte müssen sich in der Farblösung stets gut ausbreiten; man nehme daher reichlich Farbflüssigkeit in grösseren Gefässen. Breiten sich die Schnitte nicht gut aus, so kann man sie bei Anwendung einer wässrigen Farbflüssigkeit in dünnen Alkohol und von

diesem in die Farbflüssigkeit übertragen, wobei sie sich infolge der Diffusionsströme, welche aber nicht zu stark sein dürfen, meist gut ausbreiten. In demselben Sinne kann man bei Anwendung einer alkoholischen Farblösung die Schnitte in stärkeren Alkohol und dann in die alkoholische Farblösung zurückbringen. Doch sind diese Diffusionsströme besser zu vermeiden.

5. Der Färbeprozess kann erhöht werden durch:
   a) längere Einwirkung der Farblösung,
   b) Erhöhung der Konzentration derselben,
   c) durch Färben bei höherer Temperatur (30—50 Grad),
   d) durch den Zusatz mancher Substanzen, unter denen das Anilinöl genannt sei.

6. Differenzierungsflüssigkeiten wie Salzsäure-Alkohol sollen nach der Anwendung stets gut mit Wasser ausgewaschen werden, damit sie nicht länger als erwünscht noch nachträglich Farbe ausziehen und somit die Farben abblassen lassen.

Es soll nun eine kurze Zusammenstellung der hauptsächlich verwendeten Farbstoffe nach chemischen Gesichtspunkten gegeben werden.

1. Natürliche Farbstoffe:

Hämatoxylin, Brazilin, Karmin, Alkannin, Orcein, Litmus, Purpurin, Alicarin etc.

Hämatoxylin ($C_{16}H_{14}O_6$) wird aus dem Blauholz, Kampeschuholz (Haematoxylon Kampeschuanum), welches in Domingo, Haiti, Jamaica etc. wächst, durch Ausziehen mittels Äther gewonnen. Seine Konstitution ist von Perkin und Yates ermittelt worden. Es besteht aus einem Pyrogallusradical in Verbindung mit Brenzkatechin. Hämatoxylin ist als solches kein Farbstoff, sondern ein sogenanntes Leukoprodukt, und es wird erst zum Farbstoff in höheren Oxydationsstufen, nämlich im sogenannten Hämatein ($C_{16}H_{12}O_6$) und in noch höheren Oxydationsstufen. Auch diese Farbstoffe färben Gewebe nicht direkt, sondern sie benötigen zur Färbung einer Beize, gehören also zu den sogenannten indirekten oder adjektiven Färbemitteln. Als Beize kommen hier hauptsächlich Alaun, Chrom, Kupfer, Eisen und Vanadium, mit denen die Farbstoffe Lacke bilden, in Betracht.

Dem Hämatoxylin sehr ähnlich ist das Brazilin ($C_{16}H_{14}O_5$).

Karmin wird aus dem weiblichen Coccus (Cacti Coecinellifera) gewonnen. Es enthält stickstoffhaltige Substanzen (etwa 20 %), Kalk (3 %) und Alaun (3 %), sodann als Hauptbestandteil die Farbsäure, die sogenannte Karminsäure (etwa 56 %). Wasser etwa 17 %. Liebermann hat die Konstitution der Karminsäure als $C_{22}H_{22}O_{13}$ angegeben und rechnet sie zu den den Oxychinonen verwandten Körpern, doch ist die Konstitution der Karminsäure nicht mit Sicherheit ermittelt.

Dem Karmin steht die Cochenille sehr nahe. Ihr Auszug enthält karminsaures Alkali

2. Anilinfarben. Sie leiten sich alle vom Benzol C_6H_6 ab

(Bildlich als = Benzolring dargestellt.)

Alle Farben besitzen eine oder mehrere Gruppen, welche dem Gesamtmolekül den Charakter der Farbe geben. Man nennt sie Chromophore (Witt). Als bestes Beispiel dient die Pikrinsäure = Trinitrophenol. Hier sind im Phenol (Benzolring mit Ersatz eines H durch $OH = C_6H_5 - OH$) 3 H durch die Nitrogruppe NO_2 ersetzt, also = $C_6H_2(NO_2)_3 - OH$. Die Nitrogruppen dienen hier als chromophore Gruppen und der Gesamtkörper wird zu der gelben Farbe. Ersetzt man die 3 NO_2-Gruppen durch 3 NH_2 (Amido)-Gruppen, so ist der Körper keine Farbe mehr, ein Beweis, dass die NO_2-Gruppen in der Pikrinsäure in der Tat die chromophoren Gruppen sind.

a) Saure Anilinfarben:

Säurefuchsin ist das Natriumsalz der Rosanilindisulphosäure.

Eosin ist das Kaliumsalz des Tetrabromfluorescëins.

Erythrosin ist das Natriumsalz des Tetrajodfluorescëins.

Orange G ist das Natriumsalz des disulphosauren Benzol-Azo-β-Naphthols.

Sudan III ist Azobenzol-Azo-β-Naphthol.

Scharlach-R. (Fettponceau) ist Azo-Orto-Toluol-Azo-β-Naphthol (enthält zwei CH_3-Gruppen mehr als das Sudan III).

Pikrinsäure ist Trinitrophenol

$$[C_6H_2(NO_2)_3 - OH] = O_2N \begin{matrix} OH \\ \diagup\diagdown \\ \diagdown\diagup \\ NO_2 \end{matrix} NO_2.$$

Aurantia ist Hexanitro-diphenylamin

$$= NH_4 - N \begin{matrix} \diagup C_6H_2(NO_2)_3 \\ \diagdown C_6H_2(NO_2)_3. \end{matrix}$$

b) Basische Anilinfarben:

Methylenblau, Thionin, Toluidinblau, Methylenviolett (das letztere ist in dem sogenannten polychromen Methylenblau enthalten) gehören zu den Thio-Diphenyl-Aminen oder Thiazinen. Sie enthalten alle Schwefel. Am einfachsten konstituiert von diesen Substanzen ist das Thionin oder Lauthsche Violett, welches ein Diamido-Diphenyl-Amin (oder Amido-Diphenyl-Thiazin) darstellt. 4 Methylgruppen (CH_3) mehr enthält das Methylenblau.

Fuchsin, auch Rosanilin, Rubin, Anilinrot, Magenta genannt, ist ein Methyl-Triamido-Triphenyl-Karbinol. Meist wird salzsaures Rosanilin verwandt.

Methylviolett gehört zu derselben Gruppe wie das Fuchsin. Es ist eine Mischung von Tetra-Penta- und Hexa-Methyl-Para-Rosanilin.

Gentianaviolett und Kristallviolett sind ebenfalls Para-Rosaniline. Das erstere ist eine Mischung der Chloride des Penta- und Hexa-Methyl-Para-Rosanilins.

Dahlia ist eine Mischung des Methylvioletts und Fuchsins.

Anilinblau ist Triphenyl-Rosanilin.

Safranin ist das Amido-Derivat einer Azoniumbase.

Bismarckbraun und Vesuvin gehören zu den Azo-Körpern und stellen Triamido-Azo-Benzol dar. Das käufliche Salz ist meist das salzsaure Salz des Diazo-Körpers.

Anhang.

Injektion.

Spielt diese in der normalen Anatomie eine grosse Rolle, so kommt sie in der pathologischen Anatomie zur Darstellung von Blut- und Lymphgefässen, sowie Drüsenkanälen nur unter seltenen Bedingungen zur Verwendung.

Die Methode soll daher hier nur kurz besprochen werden. Wegen aller Details sei auf die Enzyklopädie unter der Rubrik: Injektion der Blut- und Lymphgefässe (Artikel von Hoyer) verwiesen.

Man unterscheidet kalt- und warmflüssige zur Injektion dienende Gemische.

Die warmen Gemische sind in ihrer Anwendung, sowie in ihrer Darstellung meist komplizierter, in der Regel aber vorzuziehen.

Zur Injektion benutzt man entweder Spritzen oder, im allgemeinen vorzuziehen, extra konstruierte Apparate. Mit diesen gelingt es leichter und auch mit geringerer Übung einen konstanten, gleichmäßigen Druck, auf den es besonders ankommt, auszuüben. Ein derartiger Apparat ist z. B. von Toldt angegeben worden.

Besonders bei Doppelinjektionen von Arterien (rot) und Venen (blau) sind die Apparate vorzuziehen.

Benutzt man eine Spritze, so muss zwischen ihrem Ansatzteil und der Kanüle eine Abschlussvorrichtung angebracht werden, damit, wenn die Spritze neu gefüllt wird, keine Luftblasen mitinjiziert werden.

Die Injektionsmasse selbst muss frei von Gasblasen sein. Es müssen möglichst frische Organe verwendet werden (von ganzen Tieren soll hier nicht die Rede sein); diese werden zunächst zur Blutentfernung mit physiologischer Kochsalzlösung oder mit fibrinauflösenden Medien, wie z. B. frisch filtrierter, 8%iger Natriumsulfat- oder -nitratlösung ausgewaschen, im letzteren Falle

zuletzt auch mit Kochsalzlösung. Es ist dies in der Regel besser, als wie die Organe in derartige Flüssigkeiten oder in Wasser zu legen und durch leichten Druck das Blut möglichst zu entfernen.

Das zu injizierende Gefäss muss freigelegt werden, am besten stumpf, damit Zerreissungen anderer Gefässe nach Möglichkeit vermieden werden. Sollten solche doch eintreten, was man oft erst bei der Injektion an dem Austreten der Flüssigkeit merkt, so schliesst man sie durch Klemmpinzetten ab.

Das freigelegte Gefäss wird mit einem kleinen Längsschnitt versehen, man führt eine kleine Kanüle ein, bindet sie mit einem Seidenfaden fest, wozu die Kanüle am besten eine leichte Einschnürung unterhalb ihres Spritzenteils aufweist und injiziert jetzt mittels der Spritze oder mittels des grösseren Apparates unter mäßigem Druck. Die Injektion ist so lange fortzusetzen, bis das Organ diffus gefärbt erscheint und die Flüssigkeit durch die Venen abläuft. Wenn sich ein starker Widerstand geltend macht, so höre man auf, sonst treten Extravasate ein.

Zur Injektion von Lymphgefässen, welche weit schwieriger ist, und bei welcher, um Zerreissungen zu vermeiden, nur geringer Druck angewendet werden darf, muss man oft, besonders wenn es sich um kleine Lymphgefässe handelt, in der Nähe eines Blutgefässes direkt einstechen und die Kanüle einführen.

Handelt es sich um kalte Injektionen, so härtet man nach vollendeter Injektion die Gewebe 1 Stunde in Alkohol; man kann dann das Organ in kleinere Stücke zerlegen und einbetten. (Gelatinehaltige kalte Flüssigkeiten müssen wie warme behandelt werden.)

Nach Injektionen warmer Gemenge legt man das Organ, um die Gelatine zur Erstarrung und Härtung zu bringen, in eisgekühlte 10%ige Formollösung, überträgt dann in 80%igen Alkohol, härtet nach und bettet ein. Man mache keine allzu dünnen Schnitte und wähle zur Färbung die Kontrastfarbe zu derjenigen der Injektionsflüssigkeit.

Von den sehr zahlreich angegebenen Flüssigkeiten sollen folgende erwähnt werden (von beiden Arten warm und kalt zu injizierende sei hier je eine blau- und je eine rotgefärbte Mischung angegeben):

A. Kalte Injektionsmassen.

1. Bealesches Glyzerinkarmin.

Man löst 0,3 gr Karmin in einigen Tropfen Wasser mit Zusatz von 5 Tropfen Ammoniak, fügt 15 ccm Glyzerin unter Schütteln hinzu und des weiteren 15 ccm Glyzerin, welche 8—10 Tropfen Eisessig enthalten. Des weiteren werden noch hinzugefügt:

Glyzerin 15 ccm,
Alkohol abs. 7,5 ccm,
Wasser 24 ccm.

2. Tandlers kaltflüssige Gelatinemasse.

5 gr möglichst salzfreie feine Gelatine werden mit 100 ccm destilliertem Wasser zum Quellen und dann durch Erwärmen zum Schmelzen gebracht.

Man setzt derselben Berlinerblau, mehr oder weniger, je nachdem man heller oder dunkler färben will, und des weiteren langsam 5—6 g Jodkalium zu.

In der Regel bleibt ein derartiges Gemenge, dem man zur besseren Haltbarkeit einige Thymolkristalle zusetzen kann, bis zu 17° dünnflüssig, also zur Injektion verwendbar.

Die Organe werden nach der Injektion in 5%ige Formollösung übertragen. Die Gelatine wird dann so fixiert, dass man sie, ohne ihre Lösung oder Entfärbung befürchten zu müssen, den verschiedensten Manipulationen, also z. B. Behandlung mit Säuren oder Entkalkung aussetzen kann.

B. Warme Injektionsmassen.

1. Karminleimmasse nach Frey.

Bereit stehen müssen:

Eine Ammoniaklösung und eine Essigsäurelösung, von welchen man die zur Neutralisation erforderliche Tropfenzahl vorher bestimmt hat.

2—2½ gr fein verriebenes Karmin werden mit einer abgezählten Tropfenmenge der Ammoniaklösung und etwa 15 ccm destillierten Wassers durch Reiben gelöst und sodann filtriert, ein Vorgang, der sehr langsam unter Verdunstung eines Teiles des Ammoniaks vor sich geht.

Man stellt sich des weiteren eine konzentrierte, mäßig erwärmte, filtrierte Lösung feinen Leims her und setzt dieser obige Karminlösung unter Umrühren zu, erwärmt leicht auf dem Wasserbad und fügt unter beständigem Umrühren langsam diejenige Zahl Tropfen der Essigsäurelösung hinzu, welche zu der Neutralisation der ursprünglich benutzten Zahl von Tropfen der Ammoniaklösung nötig ist. Da ein Teil des Ammoniaks verdunstet ist, wird somit die Lösung sauer und in dieser wird das Karmin ausgefällt.

(Um schneller zum Ziel zu gelangen, kann man das Karmin ganz in Ammoniak lösen, diese Lösung der heissen Gelatine zusetzen, mit Essigsäure fällen und das Ganze durch Flanell filtrieren. Ein Zusatz von etwas Karbolsäure dient zur antiseptischen Erhaltung.)

2. Berlinerblaugelatine nach Thiersch.

Man benötigt folgende Lösungen:

a) 1 Teil Gelatine wird mit 2 Teilen Wasser versetzt.

Die Gelatine quillt, man lässt sie 24 Stunden stehen, löst sie sodann durch Erwärmen im Wasserbad auf gegen 100° und filtriert durch Flanell.

b) Gesättigte wässerige Lösung von schwefelsaurem Eisenoxydul.

c) Gesättigte wässerige Lösung von rotem Blutlaugensalz.

d) Gesättigte wässerige Lösung von Oxalsäure.

Man bereitet sich folgende zwei Mischungen:

1. Lösung a 30 ccm,
   Lösung b 12 ccm.
2. Lösung a 60 ccm,
   Lösung c 24 ccm.

Beide Lösungen werden für sich getrennt bei 30—32° hergestellt. Bei dieser Temperatur werden nun der 2. Mischung zuerst 24 ccm von Lösung d zugefügt und dann die Mischung 1 unter fortwährendem Umrühren.

Hierbei fällt Berlinerblau aus.

Es wird sodann auf dem Wasserbad auf 90° erhitzt und durch Flanell filtriert.

Viel einfacher zu handhaben als die besprochenen Injektionsmassen ist die Injektion von Milch in folgendem

Verfahren von B. Fischer.

Man wäscht auch hier die Gefässe zunächst mit 8 % iger Natriumsulfat- oder -nitratlösung zur Entfernung des Blutes aus und injiziert sie dann mit Milch.

Die Injektion ist vollendet, wenn die Milch klar abläuft.

Man unterbindet dann die Gefässe und härtet die Stücke 24 Stunden oder länger in:

Wasser 1000 ccm,
40 % iges Formol 75 ccm,
Eisessig 15 ccm

(letzterer wird zur Gerinnung der Milch hinzugesetzt).

Man kann sodann das Organ in Stücke zerschneiden, diese auf dem Gefriermikrotom schneiden und mit Scharlach-R. (die Milch) und mit Hämatoxylin (die Kerne) färben.

Dann treten die Gefässe rot injiziert hervor.

Eine Art Selbstinjektion bei lebenden Tieren wird experimentell zuweilen angewandt. Hierher gehört auch die schon besprochene Methode der vitalen Färbung.

Bei Tieren wurde des weiteren von Silbermann eine Art Selbstinjektion zum Nachweis von Thromben in kleinsten Blutgefässen ausgearbeitet. Er gebrauchte zuerst Indigokarmin, später Eosin etc. Die Farblösung gelangt in das Blut, aber naturgemäfs nur bis zu der Stelle, an welcher Thromben die Gefässe verschliessen. Die Methode erwies sich geeignet zur Darstellung von Kapillarthromben bei gewissen Vergiftungen. (Kaufmann.)

Gewebe deren Gefässe mit Farbflüssigkeiten injiziert sind, können, wie Gewebe überhaupt, nach einem von Spalteholz ausgearbeiteten Verfahren für die Betrachtung mit blossem Auge vollständig durchsichtig gemacht werden. Es kann hier nur kurz erwähnt werden, dass es sich hierbei darum handelt, die Organe mit einer Substanz zu durchtränken und zu umgeben, deren Brechungsindex dem mittleren Brechungsindex des betreffenden Organes gleich ist. Das Verfahren (kurz angedeutet) ist folgendes:

1. Fixieren des Objektes (eventl. nach Injektion der Gefässe) am besten in Formol (Alkohol, Sublimat oder Kaiserlingsche Flüssigkeit).

2. Bleichen in käuflichem Wasserstoffsuperoxyd, am besten (um Mazeration zu vermeiden) unter Zusatz von 1 % Formol.

3. Sorgfältiges Wässern.

4. Entwässern in steigendem Alkohol, zuletzt in völlig absolutem.

5. Übertragen in 2 mal zu wechselndes Benzol (feuergefährlich!)

6. Einlegen in ein Gemisch von Wintergrünöl und Benzylbenzoat oder Isosafrol.

Die Verhältnisse der Mischung sind für jedes Organ auszuprobieren. Für erwachsene menschliche Knochen ist eine Mischung von 5 Gewichtsteilen Wintergrünöl und 3 Gewichtsteilen Benzylbenzoat oder 3 Gewichtsteilen Wintergrünöl und 1 Gewichtsteil Isosafrol richtig.

7. Evakuieren des Benzols und der Luft mittels der Luftpumpe.

Man kann zwischen 1 und 2 eine eventl. Entkalkung einschieben oder in 4 eine Färbung von Knochen nach einer eigenen von Spalteholz angegebenen Methode.

Soll Entkalkung eventl. vorhandenen Knochens vermieden werden, so muss das in 2 verwandte Wasserstoffsuperoxyd mit Ammoniak neutralisiert werden.

Wegen aller Details s. Spalteholz, Über das Durchsichtigmachen von menschlichen und tierischen Präparaten, Leipzig 1911.

Metallimprägnation.

Statt Farbstoffe kann man auch Metallsalze verwenden, da manche Gewebsteile diese aus Lösungen mehr als andere Gewebsteile aufnehmen. Reduziert man nun die Metallsalze, ein Prozess der in den Geweben selbst vor sich gehen kann, besonders unter Einfluss des Lichtes, oder durch bestimmte Lösungen herbeigeführt wird, so enthalten die imprägnierten Gewebsbestandteile die Metalle und sind hierdurch gefärbt.

In Betracht kommen hier vor allem die Gold- und Silbersalze, während von der Osmiumsäurebehandlung hier nicht die Rede sein soll (s. unter Fett); doch sei bemerkt, dass diese Methoden in der Untersuchung pathologischer Objekte eine weit geringere Rolle spielen, als in der normalen Anatomie, und dass sie hier nur kurz angedeutet werden sollen.

Man verwendet am besten frisches Gewebe, welches auf dem Gefriermikrotom geschnitten wurde und am allerbesten dünne Häutchen, welche man über Glasklötze ausspannt. An gehärteten Objekten gelingen die Methoden oft weit weniger sicher, auch spielt sich hier die Wirkung nur an oberflächlichen Gewebsteilen ab.

A. Goldimprägnation.

Sie wurde zuerst von Cohnheim verwandt, besonders zur Darstellung der Achsenzylinder der Nerven, sowie deren feinster Endigungen und des weiteren der Tastkörperchen.

Es sind ausserordentlich viele Vorschriften angegeben worden. Unter diesen soll hier nur erwähnt werden die (s. auch unter Nervensystem):

Löwitsche Methode.

1. Einlegen kleiner Membranstückchen oder frischer Stücke in Ameisensäure (spezifisches Gewicht 1,12) 3—5 Minuten.
2. Übertragen in 1 %ige wässerige Goldchloridlösung 5—8 Minuten.
3. Wässern.
4. Reduzieren in:
   Ameisensäure 1 Teil,
   Wasser 3 Teile,
   24 Stunden.
5. Weiteres Reduzieren in:
   Ameisensäure 1 Teil,
   Wasser 1 Teil,
   24 Stunden.
6. Gründliches Wässern.
7. Einschliessen in Glyzerin-Gelatine.

Ausser 1 sollen alle Manipulationen im Dunkeln ausgeführt werden.

B. Silberimprägnation.

Sie wurde von v. Recklinghausen eingeführt und dient vor allem zur Darstellung der Zellgrenzen, besonders der Endothelien von serösen Häuten, sowie Gefässen. Sie kann also zur Unterscheidung, ob es sich um von

Endothelien überzogene Membranen handelt, wichtig sein. Die Gewebe sollen möglichst frisch entnommen werden, und auch hier handelt es sich zumeist um dünne Membranen, welche man am besten über Glas spannt. Man verfährt dann folgendermaßen:

1. Abspülen in destilliertem Wasser oder isotonischer Kaliumnitratlösung (1,3 in 100) zur Entfernung des Blutes etc.

2. Einlegen in:

Argentum nitricum 1 gr.
Aqua dest. 300 ccm.

so lange bis die Gewebe schwarzgrau erscheinen.

Die Versilberung soll in Sonnenlicht oder wenigstens bei hellem Tageslicht vorgenommen werden.

3. Waschen in destilliertem Wasser.

4. Übertragen in eine 2 %ige Lösung von unterschwefligsaurem Natrium (Fixiernatron) 5—10 Sekunden (um Nachdunkeln zu verhüten).

5. Waschen in destilliertem Wasser.

6. Einschliessen in Glyzerin-Gelatine.

Die Endothelgrenzen (Kittsubstanz) erscheinen braunschwarz.

Man kann auch

6. In etwa 70 %igen Alkohol einlegen (starker Alkohol ist zu vermeiden).

7. In Anilinöl entwässern.

8. Xylol. Balsam.

Während im allgemeinen empfohlen wird, die Metallösungen in dunklen Flaschen und im Dunklen zu halten, wird andererseits betont, dass gerade Licht die Imprägnationsfähigkeit der Lösungen verbessert, sodass man nicht das Licht scheuen soll.

Um die Endothelgrenzen von Gefässen darzustellen, injiziert man die Gefässe am besten mit der Silberlösung — man nimmt hier eine $^1/_2$ %ige Silbernitratlösung, welcher auf je 100 ccm 1 Tropfen Salpetersäure zugefügt ist — und lässt diese 2—3 Minuten einwirken, durchspült dann die Gefässe mit 5 %iger warmer Gelatinelösung, fixiert in 95 %igem Alkohol 24 Stunden, bettet in Gummi ein, schneidet auf dem Gefriermikrotom und setzt die Schnitte dem Sonnenlicht aus, bis die Silbergrenzen der Zellen hervortreten (nach Mann).

Oder man injiziert in die Gefässe die obengenannte ($^1/_3$ %ige) Silberlösung, welcher 5 %ige Gelatine, warm gelöst, zugesetzt ist und verfährt dann wie oben nach dem Recklinghausenschen Verfahren angegeben.

Die heute beim pathologischen Arbeiten weit wertvoller gewordenen Silber- und evtl. Silber-Goldverfahren nach van Ermenghem, Levaditi, Golgi, Ramón y Cajal, Bielschowsky, welche besonders im Nervensystem Verwendung finden, und des weiteren zur Darstellung von Bindegewebe, Geisseln der Bakterien, Spirochäten etc. von Bedeutung sind, sowie die Silberimprägnation der Harnsäure, s. an anderen Stellen dieses Buches.

Die Imprägnationsverfahren sind im allgemeinen weit launischer und schwerer zu handhaben, als die gewöhnlichen Färbungen, haben aber doch in den letztgenannten Methoden bedeutende Verbesserungen und ziemliche Konstanz erlangt.

Kapitel X.

Färben der allgemeinen Zellbestandteile.

A. Kernfärbungen.

Hier kommen einmal von den natürlichen Farben Hämatoxylin und Karmin, zweitens fast alle basischen Anilinfarbstoffe in Betracht. Da der wichtigste Kernfarbstoff das Hämatoxylin ist, stellen wir ihn voran. Die Hämatoxylinkernfärbungen sind für allgemeine Zwecke die empfehlenswertesten, sodann kommen die Karminfärbungen, vor allem für diejenigen Fälle, in welchen gewisse Bestandteile blau dargestellt werden, sodass sich eine rote Kernfärbung empfiehlt.

Die Anilinfärbungen der Kerne kommen nur für bestimmte Fälle in Betracht, besonders wenn gleichzeitig Bakterien sichtbar gemacht werden sollen; oder diese Anilinfarben müssen zur Kernfärbung angewandt werden, in Fällen, in welchen wie z. B. nach gewissen Härtungen die Hämatoxylinfärbung versagt.

I. Hämatoxylin.

Wie bereits dargelegt, ist das Hämatoxylin eine Leukobase, erst seine Oxydationsprodukte, vor allem das Hämateïn, sind Farbstoffe. Lässt man Hämatoxylinlösungen am Licht stehen, also oxydieren, was man als „reifen“ bezeichnet, so bildet sich das Hämateïn; oder aber man kann die Oxydation sofort bewirken durch Oxydationsmittel (Details s. im Buche von Mann); oder man verwendet direkt statt des Hämatoxylins zur Darstellung der Lösung die Oxydationsstufe Hämateïn. Der erste Weg ist der allgemeine, doch ist infolgedessen daran zu denken, dass je nach dem Alter die Lösungen verschieden schnell und intensiv färben, d. h. je älter eine Lösung ist, desto intensiver. Lösungen, welche älter als etwa ein halbes Jahr sind, färben meist zu stark und sind deshalb besser nicht mehr zu verwenden.

Das Hämatoxylin bezw. seine Oxydationsstufen färben in der Regel nicht direkt, sondern es verhält sich wie eine adjektive

Farbe, d. h. es muss noch eine Beize verwandt werden; mit ihr wird das Objekt zunächst behandelt und dann erst mit der Hämatoxylinlösung, oder die Beize wird der Hämatoxylinlösung direkt zugesetzt, sodass beide zugleich auf das Gewebe einwirken. In beiden Fällen bildet sich dann Hämatoxylin-, oder richtiger gesagt, Hämateïnlacke.

Als Beize kommen einmal das Alaun, sodann Schwermetalle, vor allem das Eisen, in Betracht.

Hämatoxylinlösungen müssen, um von den Niederschlägen, welche sich während der Oxydation bilden, befreit zu werden, filtriert werden.

Fast nach allen Härtungen gelingen Hämatoxylinkernfärbungen gut, am wenigsten nach Osmiumsäurehärtung.

Das Hämatoxylin färbt die Kerne blau- bis braunschwarz (die Färbung ist sehr haltbar): des weiteren färben sich (blau): Schleim, Kalk, Eisen (Kupfer) und, wenn in grossen Massen vorhanden, Bakterien ganz hellblau mit, also lauter Dinge, welche nicht mit den Kernen verwechselt werden können. Das Protoplasma färbt sich event. ebenfalls blau mit, aber sehr viel weniger tief als die Kerne, da letztere weit grössere Affinität zu den Hämatoxylinfärbungen bekunden.

Will man nur eine Hämatoxylinfärbung anwenden, so ist es ganz zweckdienlich, das Protoplasma leicht mitzufärben, in der Regel aber wird man nur die Kerne blau, das Protoplasma in einer Kontrastfarbe anders färben wollen (s. unten). Um somit eine mehr oder weniger reine Kernfärbung zu erzielen, kann man die progressive Methode anwenden, d. h. nur kurz färben und in einem Zustand abbrechen, in welchem erst die Kerne gefärbt sind, oder aber man wendet — und zwar dies zumeist — die regressive Methode an, d. h. man überfärbt und differenziert dann in $^1/_2$–1%iger Alaunlösung oder besser in 1 bis $1^1/_2$%iger Lösung von Salzsäure in 70%igem Alkohol, bis das Protoplasma seine Farbe wieder abgegeben hat, die Kerne aber dunkel gefärbt bleiben. Nach der Hämatoxylinfärbung und event. Differenzierung, besonders nach letzterer, muss gründlich in Leitungswasser ausgewaschen werden, um kräftige Blaufärbung zu erzielen. Alle Spuren von Säure müssen entfernt werden. Man kann auch, um schneller eine dunkle Färbung zu erzielen, dem Wasser einige Tropfen eines Alkalis, z. B. einige Tropfen einer dünnen Ammoniaklösung zusetzen, doch ist dies im allgemeinen nicht anzuraten, da Protoplasmanachfärbungen, wie sie doch gewöhnlich angeschlossen werden sollen, nur schlecht gelingen, wenn nicht das Alkali durch langes Wässern wieder ganz entfernt wird. Die etwas zeitraubende Wässerung der Schnitte wird, wie wir sehen werden, bei Verwendung des Eisenhämatoxylins Weigerts bedeutend abgekürzt.

Von den ausserordentlich zahlreich angegebenen Hämatoxylingemischen sollen die folgenden angegeben werden:

a) Lösungen des Hämatoxylins bezw. Hämateïns mit Alaunzusatz.

1. Böhmers Alaunhämatoxylin (1865—68).

Lösung I: 1 gr Hämatoxylin wird in
10 ccm absolutem Alkohol gelöst.

Lösung II: 20 gr Alaun werden in
200 ccm warmem destillierten Wasser
gelöst und nach dem Erkalten filtriert.

Man lässt beide Lösungen 24 Stunden stehen, mischt sie und lässt sie in einem offenen Gefäss 8 Tage am Licht reifen. Nach Filtrieren ist sodann die Lösung gebrauchsfertig.

2. Delafieldsches Alaunhämatoxylin (1885).

Lösung I: 400 ccm konzentrierte Lösung von Ammoniakalaun.

Lösung II: 4 gr Hämatoxylin gelöst in 25 ccm absolutem Alkohol.

Lösung I und II werden gemischt und bleiben im offenen Gefäss unter mehrmaligem Schütteln 3—4 Tage dem Licht ausgesetzt. Man filtriert, setzt
100 ccm Glyzerin und
100 ccm 96%igen Alkohol
hinzu und filtriert nochmals. Am besten lässt man die Lösung nun noch einige Zeit in offener Flasche, dann erst in verschlossener stehen. Beim Gebrauch verdünnt man die Lösung am besten mit destilliertem Wasser oder dünner (etwa 2%iger) Alaunlösung.

3. Ehrlichs saures Hämatoxylin (1886).

Hämatoxylin 2 gr,
absoluter Alkohol 100 ccm,
Glyzerin 100 ccm,
Wasser 100 ccm,
Eisessig 10 ccm,
Alaun im Überschuss.

Man lässt eine Woche oder länger am Licht stehen und filtriert dann. Alte Lösungen (nach einem halben Jahr) ergeben die besten Färbungsresultate und wenn in gut verschlossenen braunen Flaschen aufgehoben, hält sich die Lösung sehr lang sehr gut ohne Bildung weiterer Niederschläge.

4. Mayers Hämalaun (1891, modifiziert 1904).

Hämateïn 1 gr gelöst in einem Liter destilliertem Wasser wird versetzt mit Natriumjodat 0,2 gr und Alaun 50 gr.

Die beiden letztgenannten Salze lösen sich unter Umschütteln bei gewöhnlicher Temperatur.

Da diese Lösung direkt mit Hämateïn zubereitet wird, braucht sie nicht zu reifen. Eine eventuelle Verdünnung der Farblösung und ebenso wenn nötig ein Differenzieren der Schnitte, nimmt man am besten mit einer 1—2%igen Alaunwasserlösung vor.

Um saures Hämalaun herzustellen, setzt man 2%ige Essigsäure oder pro Liter der Lösung 50 gr Chloralhydrat und 1 gr Zitronensäure zu.

5. Mannsches saures Hämateïn (1892).

Auch das oben angegebene saure Hämatoxylin Ehrlichs kann mit Hilfe von Hämateïn (0,5—2 gr) statt des Hämatoxylins hergestellt werden; dann ist ein Reifungsprozess ebenfalls überflüssig.

b) Andere Lösungen des Hämatoxylins bezw. des Hämateïns.

Hier kommen als Beizen vor allem noch Eisen, Kupfer, Chrom, Phosphor, Molybdänsäure und Phosphorwolframsäure in Betracht. Die so gebildeten Lacke dienen aber zumeist Spezialzwecken, nicht allgemeinen Kernfärbungen, insbesondere in den von Weigert, Mallory etc. angegebenen Methoden des Zentral-Nervensystems.

Hier erwähnt werden sollen nur die Eisenhämatoxylinlösungen und da die Heidenhainsche bei der Besprechung der Kernteilungsfiguren des genaueren dargestellt werden soll, nur die Eisenhämatoxyline nach Weigert, Benda und Hansen. Man verwendet hierzu das Hämatoxylin, nicht das Hämateïn, da das Hämatoxylin in Kontakt mit Eisenlösungen selbst über das Hämateïn hinausoxydiert, sodass auch derartige Lösungen weit schneller reifen, als die besprochenen mit Alaunzusatz, bezw. sofort verwendbar sind.

6. Weigertsches Eisenhämatoxylin.

Das Eisen ist direkt in der Lösung als Beize enthalten.

Lösung I: Hämatoxylin 1 gr,
96%igen Alkohol 100 ccm.

Lösung II: Liquor ferri sesquichlorati (spezifisches Gewicht 1,124) 4 ccm,
Aqua dest. 100 ccm,
konzentrierte Salzsäure 1,0 ccm.

Beide Lösungen lassen sich gut aufheben. Die Hämatoxylinlösung (I) ist sofort gebrauchsfähig, wird nach einigen Tagen (Oxydation) noch besser, soll aber nicht länger wie etwa ein halbes Jahr verwendet werden, da sie sonst wohl infolge von Überoxydation schlecht färbt. Zum Gebrauch mische man kleine Quantitäten der Lösung I und II zu gleichen Teilen, die Mischung färbt sofort, am besten aber erst am zweiten Tag und färbt gut etwa 8—14 Tage. Nachher färbt sie schlechter und soll fortgegossen werden. Der Zusatz der Salzsäure verhütet allzu starke Überfärbung, doch ist gewöhnlich kurzes Differenzieren in

Salzsäurealkohol vorteilhaft. Die Schnitte zeigen die dunkle Kernfärbung sofort im Wasser und brauchen daher nicht lange gewässert zu werden. Die Färbung ist, besonders in Kombination mit der Nachfärbung mit van Giesonscher Lösung (s. unten), eine besonders empfehlenswerte.

7. Hansensche Eisenhämatoxylinlösung.

Lösung I: Eisenalaun (Ferriammoniumsulfat) 10,0 gr,
Aq. destill. 150 ccm
in der Wärme lösen.

Lösung II: Hämatoxylin 1,6 gr,
Aq. destill. 75 ccm
in der Wärme lösen.

Nach dem Erkalten Lösung I und II mischen, zum Kochen erhitzen. Die Lösung wird braun, dann blau, dann dunkelviolett. Man lässt etwa 1 Minute sieden (nicht zu viel umrühren) und dann erkalten. Zur Färbung mischt man von dieser Lösung 40 ccm, mit 1%iger Schwefelsäure 10 ccm oder 20 ccm.

Die Lösung färbt sehr ähnlich der Weigertschen, aber nicht ganz so intensiv.

8. Bendas Eisenhämatoxylin-Methode s. später.

Das Ehrlichsche saure Hämatoxylin hat den Vorteil, sich gut zu halten und nicht zu überfärben. Es ist daher den Böhmerschen und Delafieldschen Mischungen vorzuziehen. Das Mayersche Hämalaun hat den Vorzug, sofort gebrauchsfähig zu sein. Vor den Alaunlacken haben die Eisenlacke den Vorzug intensiverer Färbung, auch sind hier die Lösungen sehr bald bezw. sofort brauchbar. In der Anwendung ist das Weigertsche Hämatoxylin einfacher und färbt besser und sicherer als das Bendasche, und etwas intensiver wie das Hansensche. Wir empfehlen somit das Weigertsche Eisenhämatoxylin in erster Linie zu allgemeinen Kernfärbungen. Es hat insbesondere folgende Vorzüge:

1. Einfache und schnelle Bereitung gut haltender Stammlösungen (am besten verfertigt man grössere Quantitäten, damit die Fehlerquelle des Eisenprozentsatzes eine möglichst kleine ist).

2. Die Kerne werden fast sofort und sehr dunkel gefärbt.

3. Fast keine Überfärbung.

4. Langes Auswaschen ist überflüssig.

5. Die Nachfärbungen, besonders mit der van Gieson-Methode, gelingen besonders gut.

Zusammenfassung der Anwendungsweise von Hämatoxylinlösungen.

1. Färben in der Hämatoxylinlösung je nach der Lösung 1 bis 15 Minuten.

2. Wenn nötig Differenzieren in 1 %igem Salzsäurealkohol.

3. Waschen in Leitungswasser; bei den Alaunhämatoxylinen längere Zeit hindurch, nachdem event. zunächst dem Wasser einige Tropfen Ammoniak zugesetzt waren (event. Nachfärben mit Protoplasmafarben, wie Eosin, Orange G, nach van Gieson etc.).

4. Entwässern in 96%igem Alkohol,

5. Aufhellen in Karbolxylol,

6. Einschliessen in Kanadabalsam,

(für Celloidinschnitte).

4. Entwässern in abs. Alkohol.

5. Aufhellen in Xylol.

6. Einschliessen in Kanadabalsam.

(für Paraffinschnitte).

II. Karmin und Karminsäure.

Karmin, der erste zu histologischen Färbungen gebrauchte Farbstoff wurde früher allgemein mehr verwendet als jetzt. Von den zahlreichen Vorschriften sollen folgende hier angeführt werden:

a) Wässerige Gemische.

1. Alaunkarmin (Grenacher 1879).

Karmin ½—1 gr,
1—5 %ige wässrige Alaunlösung, 100 ccm.

20 Minuten Kochen, nach dem Erkalten filtrieren.

Mayer kocht 2 gr Karmin mit 5 gr Alaun in 100 ccm Wasser 1 Stunde lang (die Lösung ist dann ziemlich stark sauer und färbt intensiver).

2. Karmalaun nach Mayer (1891).

Karminsäure 1 gr.
Alaun 10 gr,
destilliertes Wasser 200 ccm.

In der Wärme lösen und kalt filtrieren. Zur besseren Aufbewahrung kann man einige Tropfen Formol oder einige Thymolkristalle zusetzen.

Bei der Anwendung beider Lösungen wird

1. 10 Minuten bis einige Stunden gefärbt.
2. gut in Wasser ausgewaschen,
3. in Alkohol entwässert.

Eine eventuelle Protoplasmafärbung, z. B. mit Pikrinsäure, wird zwischen 2 und 3 eingefügt.

Karmalaun kann bei stark alkalisch reagierenden Geweben nicht verwendet werden. Ist bei seiner Anwendung das Protoplasma mitgefärbt, so kann man in einer 1 %igen Alaunlösung oder in einer 1 %igen Salzsäurelösung differenzieren.

3. Lithionkarmin (Orth 1883).

Karmin 2,5—5 gr,
wässrige kaltgesättigte Lösung von Lithioncarbonicum 100 ccm.
Aufkochen, Filtrieren.

Anwendung:

1. Färben 2—5 Minuten.
2. Direktes Übertragen und Differenzieren in Salzsäurealkohol (1 ccm gewöhnliche Salzsäure in 100 ccm 70 %igen Alkohols) $^1/_4$ bis 24 Stunden.
3. Auswaschen in Wasser.
4. Entwässern in Alkohol etc.

Eine eventuelle Protoplasmafarbe. z B. Pikrinsäure, wird zwischen 3 und 4 eingefügt.

Zwischen 1 und 2 darf nicht gewässert werden.

Das Lithionkarmin ist die am meisten zu empfehlende Karminlösung. Es färbt auch sonst schwer färbbare Objekte und färbt die Kerne und nur diese schön rot. Auch hält sich die Färbung gut. Die schönste, kräftigste isolierte Karminfärbung wird erzielt, wenn man etwa 5—10 Minuten in der Karminlösung färbt und dann 12—24 Stunden lang die Schnitte in Salzsäurealkohol liegen lässt.

b) Alkoholische Gemische.

4. Boraxkarmin (Grenacher 1879).

Karmin 2—3 gr werden in
4 %iger wässeriger Boraxlösung
durch Kochen gelöst.
Das gleiche Quantum 70 %igen Alkohols wird zugefügt.
Nach längerem Stehen Filtrieren.

Anwendung:

Nach dem Färben wird direkt in Salzsäurealkohol für längere Zeit differenziert, und dann in Alkohol entwässert. Diese Karmin-Lösung dient vor allem zur Stückfärbung.

5. Salzsäure-Karmin (Mayer 1883).

Karmin 4 gr,
Wasser 15 ccm.
Salzsäure 30 Tropfen.
Lösen durch Kochen.
95 ccm 85 %iger Alkohol
werden hinzugefügt und heiss filtriert.

sodann mit Ammoniak neutralisiert, bis sich gerade ein bleibender Niederschlag bildet, nach dem Erkalten filtriert.

Anwendung:

1. Färben eine bis mehrere Minuten,
2. Differenzieren in Salzsäurealkohol,
3. Auswaschen und Entwässern in Alkohol,
4. Karbolxylol etc.

Diese Lösung ist besonders anzuwenden bei Schnitten, welche nicht mit Wasser in Berührung gebracht werden sollen.

Die Karminfärbungen sind zu allgemeinen Kernfärbungen den Hämatoxylinfärbungen hintanzustellen. Unter den Karminfärbungen ist das Orthsche Lithionkarmin am meisten zu empfehlen und zwar besonders wenn es auf folgende Punkte ankommt:

1. Bei Geweben, welche bestimmte braune Pigmente enthalten, welche sich von dem roten Grund der Karminfärbungen besser als von dem blauen der Hämatoxylinfärbungen abheben. Man unterlässt in diesen Fällen am besten jede Protoplasmanachfärbung.

2. Wenn besondere Bestandteile blau dargestellt werden, so elastische Fasern, Fibrin oder Bakterien, sodass eine rote Kontrastfarbe erwünscht ist.

III. Basische Anilinfarben.

Fast alle basischen Anilinfarben färben die Kerne, jedoch stehen diese Kernfärbungen denen mit Hämatoxylin und Karmin für allgemeine Zwecke nach. Die meisten Anilinfärbungen der Kerne sind auch nur sehr wenig haltbar. Besonders ist dies bei dem früher zu Kernfärbungen sehr viel gebrauchten Methylenblau der Fall, während das Bismarckbraun sich weit besser hält.

Von den basischen Farbstoffen kommen hier vor allem in Betracht: Methylenblau, Fuchsin und Gentianaviolett, ferner das Bismarckbraun. Alle diese Farbstoffe färben zugleich Bakterien, sie werden daher besonders für Kernfärbungen, welche zugleich mit Bakterienfärbungen vorgenommen werden sollen, angewandt.

Man verwendet die Farbstoffe am meisten in einer 1—2%igen Lösung in destilliertem Wasser. Es muss sodann in Alkohol differenziert werden. (Wegen aller Details s. das Kapitel der Bakterienfärbungen.)

Erwähnt werden soll noch, dass als einzige Ausnahme von allen diesen Farbstoffen das Methylgrün zwar die Kerne, aber nicht Bakterien färbt, eine Eigenschaft, welche in manchen Gemischen Verwendung findet. Starke wässrige Lösungen von Methylgrün mit etwa 1%iger Essigsäure färben auch Schnitte von frischem Material sehr gut. Von weiteren Anilinfarbstoffen hat das Kresylviolett (R. extra chem. Fabrik Mühlheim a. Rh.) Verbreitung gefunden. Man färbt mit einer konzentrierten

wässerigen Lösung 5—10 Minuten, differenziert in 70%igem Alkohol bis keine blauen Farbwolken mehr abgehen, entwässert etc. Die Kerne erscheinen violett, Mastzellen metachromatisch rotviolett, Plasmazellen blau.

Hier angeführt werden soll noch das Safranin, da dies als Kernfärbungsmittel auch zu allgemeinen Zwecken nach Osmiumsäurehärtung dient, weil bei dieser Hämatoxylin- und Karminfärbungen meist versagen. Am besten verwendet man eine 1%ige wässerige Lösung des Safranins.

Anwendung:

1. Färben in der Safraninlösung 1—24 Stunden.
2. Abspülen in Wasser ganz kurz.
3. Kurzes Differenzieren in absolutem Alkohol, dem einige Tropfen Salzsäure zugesetzt sind.
4. Entwässern und Differenzieren, bis keine groben Farbwolken mehr aufsteigen, in absolutem Alkohol.
5. Xylol, Balsam.

Die Kerne sind hellrot gefärbt, Mitosen (s. dort) dunkelrot

B. Plasmafärbungen.

Das Protoplasma wird von einer grossen Reihe von Anilinfarben färberisch dargestellt, und die Entdeckung Ehrlichs, dass basische Farben hauptsächlich den Kern, saure Farben besonders das Plasma und die Intercellularsubstanzen darstellen, kann mit allen dadurch ermöglichten Variationen direkt als der Ausgangspunkt und die erste theoretische Grundlage moderner Zellfärbetechnik angesehen werden.

Unter den sauren Anilinfarben, welche zur Plasmafärbung dienen, sind am meisten im Gebrauch das Eosin und das Orange G, besonders wenn die Kerne mit Hämatoxylin oder Methylenblau gefärbt sind, und ferner die Pikrinsäure als Kontrastfärbung gegenüber Kernfärbungen mit Karmin. Säurefuchsin wird vor allem in Mischungen angewandt. Da nun diese Protoplasmafärbungen fast nie für sich allein gebraucht werden, sondern fast stets in Kombination mit, und zwar nach den genannten Kernfärbungen, so werden wir sie erst im nächsten Abschnitt bei den Doppel- oder Mehrfachfärbungen besprechen. Hier sei noch das Ammoniakkarmin erwähnt, welches zu diffusen Färbungen, besonders des Protoplasmas, hier und da verwandt wird. Wir führen hier folgende Mischung an.

Ammoniakkarmin nach Honegger.

Karmin wird mit der kleinstmöglichen Menge von Ammoniak zu einem dicken Brei verrieben und in dünner Lage an der Wand der

Reibeschale ausgebreitet, wo es eintrocknen soll. Wenn völlig trocken, wird die Masse gesammelt, fein pulverisiert und 24 Stunden offen der Luft ausgesetzt, sodann in destilliertem Wasser kalt gelöst.

Zum Gebrauch werden ein paar Tropfen dieser Lösung destilliertem Wasser zugesetzt, bis dies eine hellrote Färbung darbietet. Die Schnitte werden hierin bis zu 24 Stunden, d. h. bis sie deutlich rot erscheinen, gefärbt, dann tüchtig in Wasser ausgewaschen, entwässert etc. Die Kerne erscheinen leicht rot, Protoplasma, Bindegewebe, Muskelfasern etc. dunkelrot. Will man die Kerne in Kontrastfarbe darstellen, so kann man zuerst eine Hämatoxylinfärbung der Kerne vornehmen, dann am besten 12—24 Stunden wässern und sodann mit dem Ammoniakkarmin färben. Alte Lösungen des Karmins färben besser. Starke Lösungen färben schneller, sind aber nicht empfehlenswert.

C. Kombinierte Kern- und Plasmafärbung.

Bei solchen Doppelfärbungen geht man entweder so vor, dass man erst den einen Bestandteil, sodann den anderen färbt, und zwar hierbei stets zuerst die Kerne und dann das Protoplasma, oder dass man simultan durch Farbstoffgemische beide Zellbestandteile auf einmal färberisch darstellt. In der Regel ist ersteres (sukzessive Methode) bei weitem vorzuziehen, zumal man dabei jede Nüancierung bei der Färbung in der Hand hat. Eine einzeitige (simultane) Färbung wird fast nur bei den Pikrokarminen vorgenommen, welche zwar unten angeführt werden sollen, aber ebenfalls heute weniger Verwendung finden.

I. Sukzessive Färbemethoden.

1. Karmin und Pikrinsäure.

Am besten verwendet man zur Färbung der Kerne in der oben angegebenen Weise das Lithionkarmin. Die Gegenfärbung mit Pikrinsäure nimmt man dann am besten in der Weise vor, dass man dem zur Entwässerung dienenden absoluten Alkohol ein paar Tropfen einer gesättigten Lösung der Pikrinsäure in Alkohol (abs.) zufügt. Man spült dann nochmals in reinem absolutem Alkohol aus und überträgt in Xylol etc.

Mit der Pikrinsäure färben sich das Protoplasma, das Bindegewebe, Muskelfasern, rote Blutkörperchen usw. Man kann auch die in Lithionkarmin vorgefärbten Schnitte nach der Differenzierung und Auswässerung in einer etwa 2—3%igen wässerigen Lösung von Pikrinsäure nachfärben, sie dann zur Entwässerung in Alkohol bringen etc.

Auch bei Hämatoxylinvorfärbungen und ebenso bei Safraninkernfärbungen kann man mit Pikrinsäure nachfärben, nur muss man hier

im Auge behalten, dass diese Kernfärbungen in der Regel durch Pikrinsäure differenziert werden, sodass man stark vorfärben muss und nur sehr kurz die Pikrinsäure einwirken lassen darf.

2. Hämatoxylin und Eosin.

Man kann mit Hämatoxylin vorgefärbte Präparate in der Weise mit Eosin nachfärben, dass man sie vor der Entwässerung in absolutem Alkohol in eine 1 % Eosin enthaltende 96 %ige Alkohollösung für 1—2 Minuten überträgt und dann erst in den absoluten Alkohol. Man kann die Rotfärbungen der einzelnen Gewebselemente sowohl durch verschieden langes Liegenlassen in der Eosinlösung, wie auch durch verschieden langes Differenzieren nachher in Alkohol ausserordentlich abstufen. Die Eosingegenfärbung gibt besonders nach Härtung in Formol oder Orthschem Gemisch ausserordentlich brillante Färbungen der roten Blutkörperchen, des gleichen nach Sublimathärtung. Das Blut tritt dann durch seine leuchtend rote Farbe, oft Injektionspräparaten vergleichbar, hervor. Will man nur die roten Blutkörperchen rot dargestellt haben, nicht aber das Protoplasma, Bindegewebe etc., so kann man dies dadurch erreichen, dass man nach der Eosinfärbung lange in Wasser und sodann in 96 %igem Alkohol differenziert, bis nur noch die roten Blutkörperchen und einige wenige andere Bestandteile das rote Eosin zurückbehalten haben. Statt der alkoholischen Lösung des Eosins kann man auch wässerige verwenden, doch sind diese weniger empfehlenswert.

Vorsicht ist bei der Eosinfärbung insofern geboten, als das Eosin sehr leicht, alles überdeckend, zu stark färbt. Wenn auch feine Nüancierungen, wie oben angegeben, erreichbar sind, so ist dies doch besonders für den Anfänger schwer, und in der Regel stellt das Eosin nur eine allgemeine Deckfarbe mit Rot dar. Ich persönlich verwende dasselbe daher zu allgemeinen Plasmafärbungen selten und empfehle das van Giesonsche Gemisch (s. unten) weit mehr, doch feiert das Eosin in der Herstellung von Blutpräparaten (s. dort) mit Recht besondere Triumphe. Das Hämoglobin färbt sich in der Tat mit keinem Farbstoff so gut, wie mit Eosin, desgleichen die eosinophilen Granula.

3. Hämatoxylin und Orange G.

Mit Hämatoxylin vorgefärbte Präparate kann man gut auch mit Orange G. nachfärben. Das Protoplasma, Bindegewebe, rote Blutkörperchen etc. sind dann orange gefärbt. Man verwendet am besten eine 1 %ige wässerige Lösung und lässt diese etwa $^1/_4$ Stunde einwirken, spült in Wasser ab und überträgt in Alkohol.

Es soll noch erwähnt werden, dass zahlreiche andere Kombinationen basischer und saurer Anilinfärbungen möglich und zu bestimmten Zwecken brauchbar sind: so z. B. Methylgrün — Eosin, Safranin — Anilinblau etc.

Noch weit empfehlenswerter als die Nachfärbung mit einem sauren Farbstoff ist diejenige mit Gemischen zweier saurer Farbstoffe, welche einzelne Bestandteile, so Muskelgewebe und Bindegewebe dadurch, dass diese verschiedene Affinitäten zu je einem der im Gemisch enthaltenen sauren Farben bekunden, differenziert darstellen. Hier steht in allererster Linie

4. Hämatoxylin und van Giesonsche Lösung.

Das van Giesonsche Gemisch besteht aus Pikrinsäure und Säurefuchsin: während die genaue Mischung von van Gieson ursprünglich nicht angegeben wurde, hängt von der richtigen Mischung doch die Brauchbarkeit der Methode ab. Man stellt am besten folgende Stammlösung her:

Säurefuchsin 1,5 gr,

gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung (ungefähr 0,6%ige) 150 ccm.

Diese Lösung ist sehr haltbar. Zum Gebrauch verdünnt man 10 ccm der Stammlösung mit 100 ccm gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung: auch diese gebrauchsfertige Lösung hält sich durch Wochen.

Man färbt die in Hämatoxylin vorgefärbten Schnitte nach der Wässerung in der van Gieson-Lösung 10—30 Sekunden, zieht ganz kurz durch Wasser durch und überträgt in den 96%igen bezw. absoluten Alkohol, sodann in Xylol oder Karbolxylol etc.

Die Methode gelingt nach Fixieren und Härten in Formol, Orthschem Gemisch, Sublimat etc. Farbresultate s. unten.

Zur Hämatoxylinvorfärbung kann man die Delafieldsche oder andere Hämatoxylinlösungen verwenden, bei weitem am besten aber das Weigertsche Eisenhämatoxylin, und da jeder histologisch Arbeitende sich bald zu allgemeinen Zwecken eine stets bevorzugte, Kern und Protoplasma etc. darstellende Methode angewöhnen wird, so möchte ich speziell diese Verbindung des Eisenhämatoxylins nach Weigert mit van Gieson-Nachfärbung als beste allgemeine Färbung empfehlen. Sie ist bei einiger Übung gerade so schnell zu handhaben wie etwa eine Hämatoxylin-Eosinfärbung, ja gelingt in der Hand des Anfängers besser. Die Lösungen sind auch sehr leicht herzustellen und gut haltbar. Während man bei anderen Hämatoxylinen grosse Vorsicht in der Länge der Einwirkung der van Gieson-Lösung beobachten muss, da sonst die Pikrinsäure der letzteren zu viel Hämatoxylin auszieht, ist dies bei der Vorfärbung mit dem Eisenhämatoxylin, welche überaus intensiv ist, nicht so ängstlich. (Hier kann man ruhig in der van Gieson-Lösung 1 bis mehrere Minuten nachfärben.) Mittels dieser Methode werden nicht nur die Kerne sehr schön dunkel dargestellt, sondern auch unter den Protoplasmaarten, dem Bindegewebe, der Muskulatur etc. herrschen ganz verschiedene Farben, teils gelb, teils rot, teils orange (s. unten), sodass

nicht nur sehr schöne farbenprächtige Bilder entstehen, sondern auch die Unterscheidung verschiedener Gewebe, so z. B. glatter Muskulatur und Bindegewebe, welche sich sonst sehr ähneln, sehr stark hervortritt und sich auch pathologische Veränderungen sehr stark hervorheben.

Die Methode soll hier noch kurz zusammengefasst werden:

1. Färben in Weigerts Eisenhämatoxylin 1—5 Minuten (s. S. 104).
2. Auswaschen in Wasser einige Minuten (event. Differenzieren in Salzsäurealkohol und sodann Auswaschen in Wasser).
3. Nachfärben in dem van Giesonschen Gemisch etwa 1 Minute.
4. Ganz kurzes Durchziehen durch Wasser.
5. Entwässern in 96%igem Alkohol, desgl. in absolutem Alkohol.
6. Karbolxylol, Xylol,
7. Kanadabalsam, Kanadabalsam,
   (für Celloidinschnitte). (für Paraffinschnitte).

Die Kerne sind dann braunschwarz, das Protoplasma gelb bis braun, das Bindegewebe erscheint leuchtend rot, Muskelfasern (quergestreifte wie glatte) sind intensiv gelb dargestellt. Hyaline Substanzen sind teils rot, teils gelb, teils orange gefärbt; hyalines Bindegewebe z. B. erscheint gelb, Kolloid orange, Amyloid gelb. Fibrin ist gelb dargestellt, desgleichen rote Blutkörperchen. Bei der Weigert-van Gieson-Kombination hebt sich auch die gelb dargestellte Neuroglia vom rot gefärbten Bindegewebe ab (s. unter Nervensystem).

Eine Modifikation der van Gieson-Lösung stellt die von Hansen empfohlene Mischung dar:

Gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung 100 ccm,
2%ige Säurefuchsinlösung in Wasser 5 ccm,
2%ige Essigsäure 12 Tropfen.

Letztere soll erst gerade vor dem Gebrauch zugesetzt werden.

Die mit Hämatoxylin vorgefärbten und gewässerten Schnitte sollen in dieses Gemisch mindestens 20 Minuten eingebracht werden, sodann soll man sie kurz in Wasser abspülen, welchem auf je 3 ccm 2 Tropfen der obigen Farbmischung zugesetzt sind; sodann entwässert man in 96%igem oder absolutem Alkohol, bringt in Xylol oder Karbolxylol etc.

Diese Modifikation ist komplizierter als die van Giesonsche Methode und gibt keine besseren Resultate, ist also weniger empfehlenswert; auch sind die Präparate wenig haltbar, was bei der van Giesonschen Methode insofern allerdings auch der Fall ist, als bei ihr der rote Ton später leicht verloren geht.

Auch andere Mischungen sind empfohlen worden, so Fuchsin- und Orangemischungen (Delépine) oder Erythrosin und Pikrinsäuregemisch (Powell White). Doch haben diese Färbungen, welche komplizierter zubereitete Lösungen benötigen und weniger scharfe Färbungsresultate geben, kaum Vorzüge vor der van Gieson-Methode.

5. Folgende Methode Bonneys (Modifikation des Flemmingschen 3 Farbengemisches) mit 3 Farben ist noch erwähnenswert.

1. Fixieren in:

2 Teile Alk. abs.,
1 Teil Eisessig
5—15 Min.

Entwässern in steigendem Alkohol (auch Fixation in Flemmingscher oder Hermannscher Lösung ist möglich), Einbetten, Schneiden, Aufkleben.

2. Färben 1 Stunde in gesättigter wässeriger Safraninlösung.

3. Wässern.

4. Färben $^1/_4$ Stunde in gesättigter wässeriger Methylviolettlösung.

5. Den Objektträger ausser dem Teil, wo der Schnitt liegt, mit Wasser abspülen und trocknen.

6. Übergiessen mit folgender Lösung: Zu 20 ccm Azeton wird gesättigte wässerige Orange G-Lösung tropfenweise zugesetzt, bis der zuerst auftretende flockige Niederschlag wieder gelöst wird. Die Lösung wird filtriert. Den Schnitt mit Filtrierpapier trocknen, wieder Farbe aufgiessen usw. bis der Schnitt wieder durchsichtig ist und eine bräunlich-rosa Farbe hat.

7. Waschen mit Azeton einige Sekunden.

8. Xylol (mehrfach wechseln), Balsam.

Chromatin, Kernkörperchen etc. tiefviolett, Chromosomen besonders deutlich, achromatische Spindeln etwaiger Mitosen blassrosa, Protoplasma rosarot, Bindegewebe blassgelb.

II. Simultanfärbungen mit Hilfe von Pikrokarminen.

Sind diese, wie bereits erwähnt, auch den sukzessiven Färbungen mit Karmin und Pikrinsäure nicht ebenbürtig, so sollen doch, weil diese Methoden vor allem früher viel in Gebrauch waren, einige Rezepte hier angeführt werden.

Ranvier sprach ursprünglich von Ammoniumpikrinkarminat. Doch zeigte Mayer, dass es sich um inkonstante Mischungen von Ammoniumpikrat, Ammoniakkarmin, freiem Ammoniak, Alaun und Kalk handelt.

Am relativ empfehlenswertesten ist noch das Pikrolithionkarmin von Orth:

Lithionkarminlösung mit $2^1/_2\,\%$ Karmin 1 Teil,
gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung 2 Teile.

Thoma empfiehlt ein Pikrinsäurekarmin folgender Zusammensetzung: 1,0 gr Pikrinsäure wird in 100 ccm destilliertem Wasser unter leichtem Erwärmen gelöst und warm filtriert. Sofort wird 0,5 gr Karmin zugesetzt und unter Umrühren langsam zum Sieden erhitzt. Während des Erkaltens wird öfters umgeschüttelt, und nach 24 Stunden filtriert (feuchtes Filter).

Man färbt in dieser Pikrinsäurekarminlösung 20 Minuten, wäscht aus, differenziert in $1\,\%$iger Pikrinsäurelösung, wäscht nochmals aus, entwässert etc.

Diese Lösung hat mir keine besonders guten Resultate ergeben.

Des weiteren soll nur auf die Pikrokarmine von Ranvier, Friedländer, Neumann, Weigert und Mayer hingewiesen werden, ohne genauere Vorschriften zu geben.

Die Pikrokarmine werden manchmal mit Vorteil bei der Untersuchung frischer Schnitte verwendet. Man färbt mit der Lösung und untersucht, nach Abtrocknen mit Filtrierpapier, in Glyzerin.

D. Methoden zur Darstellung der feineren Kernstrukturdetails insbesondere der Mitosen.

Die Darstellung der Mitosen hängt hauptsächlich von einer möglichst sofortigen Einlegung in das Fixationsmittel ab. Am besten eignet sich daher operatives Material, zumal Tumormaterial, welches ja sehr häufig besonders zahlreiche Mitosen enthält. Es ist

eine noch nicht entschiedene Frage, ob nach dem Tode noch Mitosen ablaufen oder nicht. Auf jeden Fall kann man auch an Leichenmaterial Mitosen noch in verschiedenen Stadien nachweisen.

Genügt auch im allgemeinen Härtung in Formol, Orthschem Gemisch, Alkohol, und Färbung mit Hämatoxylin und van Gieson-Lösung oder z. B. nach der in der Bakteriologie üblichen Gramschen Methode — die Mitosen sind dunkler als die ruhenden Kerne gefärbt und fallen hierdurch besonders auf, doch zeigen verklumpte Kerne und ähnliche Degenerationserscheinungen derselben ebenfalls besonders intensive Färbungen (s. Kapitel XII) —, so sind doch spezielle Darstellungsmethoden, welche die Mitosen besonders deutlich vor Augen führen, in einzelnen Fällen vorzuziehen. Die wichtigste Rolle spielt hierbei die Fixation. Als die allerbeste Methode dürfte die Härtung mit Flemmingschem Gemisch und Nachfärbung mit Safranin, nächstdem Härtung in Sublimat und Nachfärbung mit dem Heidenhainschen Eisenhämatoxylin oder nach der Ehrlich-Biondi-Heidenhainschen Methode zu empfehlen sein.

Man wähle nur sehr kleine Stücke und bringe sie in grössere Mengen der Fixierungsflüssigkeit.

1. Härtung in Flemmingschem Gemisch, Färbung mit Safranin.

Kleine Stücke werden 24 Stunden in dem Flemmingschen Gemisch (s. Seite 43) in einer braunen Glasflasche fixiert und gehärtet, nach Auswässern in steigendem Alkohol, nachgehärtet und entwässert, eingebettet und geschnitten. Sie werden sodann nach der auf Seite 109 mitgeteilten Safraninmethode gefärbt.

Statt der dort angegebenen wässerigen Lösung kann man auch das Babes'sche Anilinwassersafranin benutzen:

Eine gesättigte Lösung von Safranin in:

Anilinöl 2 ccm,

Wasser 100 ccm,

wird bei einer Temperatur von 60° hergestellt und nach dem Erkalten filtriert.

Oder man kann auch folgende Lösung verwenden:

Gleiche Teile von Anilinwasser, (schütteln von Anilinöl in Wasser im Überschuss, durch feuchtes Filter filtrieren) und konzentrierter, alkoholischer Lösung von Safranin.

Bei den Safraninmethoden zeichnen sich die dunkelrot gefärbten Mitosen vor den ganz hellrot gefärbten ruhenden Kernen gut aus (Achtung vor Verwechslung mit Degenerationsphasen des Kernes, s. auch oben). Infolge des Osmiumgehaltes der Flemmingschen Lösung ist das Fett schwarz dargestellt. Tuberkelbazillen nehmen infolge ihrer Fetthülle meist ebenfalls schwarze Färbung an oder sie erscheinen rot, wenn das Safranin länger und stärker wie z. B. bei der Babesschen Lösung eingewirkt hat, doch ist diese Darstellung der Tuberkelbazillen keine zuverlässige.

Statt des Safranins zur Nachfärbung nach Härtung im Flemmingschen Gemisch kann man auch Karbolfuchsin (s. unter Bakteriologie) am besten $^1/_2$—1 Stunde, oder eine 1%ige wässerige Methylviolettlösung 12—24 Stunden verwenden. Bei Anwendung des Karbolfuchsins färben sich evtl. vorhandene Tuberkelbazillen und zuweilen auch elastische Fasern mit. Ferner kann man gut mit der Gramschen Methode (bezw. Weigertschen Modifikation s. Kapitel XIII) nachfärben, wobei sich zugleich grampositive Bakterien (s. Kapitel Bakteriologie) dunkelblau mitfärben, welche mit den Mitosen ihrer Form nach nicht verwechselt werden können.

Statt der Flemmingschen Lösung kann man auch die Modifikation derselben nach Hermann anwenden (s. S. 43), wobei die Zentrosomen, Spindelfäden, Chromosomen etc. besonders deutlich hervortreten. Auch nach dem Hermannschen Gemisch färbt man am besten mit Safranin nach.

Will man Schnitte von in Flemmingscher Lösung gehärteten Stücken mit Hämatoxylin färben, so eignet sich hierzu die von Benda angegebene Eisen-Hämatoxylinmethode am besten. Es wird hierbei Eisenbeize und Hämatoxylin getrennt verwandt. Man verfährt folgendermaßen:

1. Beizen der Schnitte 24 Stunden in zur Hälfte mit Aqua dest. verdünntem Liquor ferri sulfurici.
2. Auswaschen in Aqua dest. und sodann in Leitungswasser.
3. Färben in 1%iger Hämatoxylin- oder Hämateïnlösung bis die Schnitte tiefschwarz sind (durchschnittlich 3—5 Minuten).
4. Auswaschen in Wasser.
5. Differenzieren in stark mit Aqua dest. verdünntem (1 : 20) Liquor ferri sulfurici.
6. Waschen in Wasser.
7. Entwässern in 96%igem bezw. absolutem Alkohol.
8. Aufhellen in Karbolxylol bezw. Xylol.
9. Einschliessen in Kanadabalsam.

Nach Mayer ist als Beize Eisenoxydsulfat in 10%iger wässeriger Lösung, die sich gut hält, vorzuziehen.

Man kann auch Bendas Kupferhämatoxylinmethode verwenden.

1. Beizen der Schnitte in Cuprum aceticum (konzentrierte Lösung in Wasser) bei 37°, 24 Stunden.
2. Gründliches Wässern.
3. Färben in 1%iger wässeriger Hämatoxylinlösung bis die Schnitte schwarz sind (etwa 3—5 Minuten.)
4. Differenzieren in dünner Salzsäure (1 zu 500 ccm Wasser) bis die Schnitte gelb sind.
5. Neutralisieren der Salzsäure in der oben angegebenen Lösung von Cuprum aceticum bis die Schnitte blaugrau erscheinen.
6. Gründliches Wässern.
7. Entwässern in Alkohol. Xylol etc.

Die Kombinationen der Härtung in Flemmingscher Lösung mit der Nachfärbung mittels Safranin kann als die beste Methode für Mitosen etc. bezeichnet werden.

2. Fixierung in Sublimatgemischen, Färben nach Ehrlich-Biondi-Heidenhain.

Die Stücke werden, wie Seite 40 ff. angegeben, in Sublimatlösungen oder Gemischen fixiert, mit Jodalkohol, absolutem Alkohol etc. nachbehandelt und eingebettet.

Zu der Färbung nach Ehrlich-Biondi-Heidenhain wird folgende Mischung verwandt.

a) Gesättigte, filtrierte, wässerige Lösung von Orange G 100 ccm,

b) gesättigte wässerige Lösung von Methylgrün 50 ccm,

c) gesättigte wässerige Lösung von Säurefuchsin 20 ccm.

(Um gesättigte Lösungen zu erhalten, lässt man einen Überschuss der Farbe mehrere Tage in destilliertem Wasser stehen und filtriert sodann).

Anwendung: a, b, c werden gemischt.

Von dieser Mischung wird je 1 ccm zu 60—100 Teilen destillierten Wassers hinzugesetzt. Die Lösung ist verwendbar, wenn sie auf Zusatz von etwas Essigsäure eine tiefer rote Farbe annimmt. Ein Tropfen der Lösung auf Fliesspapier gebracht soll einen blaugrünen Kern mit orangegelbem Rand auf dem Fliesspapier hervorrufen, während kein roter Ring an der Peripherie erscheinen darf; in letzterem Fall enthält die Lösung zu viel Fuchsin. Am besten kauft man die Mischung in Pulverform von Grübler und löst 1—2 gr in 100 ccm destillierten Wassers. Man kann sich auch (Israel) eine Stammlösung herstellen, indem man 12 gr des Grüblerschen Pulvers in 100 ccm löst und folgendermaßen mischt:

Von dieser Stammlösung 1 ccm,
Wasser 30 ccm,
$^1/_2$%ige wässerige Lösung von Säurefuchsin 3 ccm,
2%ige Essigsäure 5—6 Tropfen.

Zur Färbung verfährt man folgendermaßen:

1. Färben in der Lösung etwa 24 Stunden.
2. Auswaschen in 90%igem Alkohol einige Minuten.
3. Kurzes Entwässern in absolutem Alkohol.
4. Xylol, Balsam.

Ruhende Kerne erscheinen bläulich, Mitosen und fragmentierte Leukozytenkerne dunkelgrün, rote Blutkörperchen orange, Protoplasma und Bindegewebe fuchsinrot, Schleim ist grün, Fibrin rot dargestellt.

Die Färbung ist ziemlich launisch.

Um dieselbe weniger variabel zu machen, vergleiche man die von Heidenhain in der Festschrift für Kölliker, Seite 116, angegebenen Vorschriften über die Hinzufügung von Essigsäure. Das Heidenhainsche Gemisch stellt eigentlich eine Modifikation des Ehrlichschen Dreifarbengemisches dar, letzteres kann ebenso gut verwandt werden.

3. Fixierung in Sublimat, Färbung mit dem Heidenhainschen Eisenhämatoxylin.

Nach Färbung und Einbettung wird folgendermaßen verfahren:

1. Eintauchen der Schnitte in eine 1,5—4 %ige Lösung von Eisenalaunsulfat (nur das violett gefärbte Salz ist brauchbar) oder Eisenammoniumsulfat etwa 3 Stunden.

2. Gründliches Auswaschen.

3. Färben in einer ½ %igen wässerigen Hämatoxylinlösung (welche erst reifen muss) oder Hämateïnlösung, etwa 24 Stunden.

4. Gründliches Auswässern.

5. Differenzieren in der oben verwandten Eisenalaun- oder Eisenammoniumsulfatlösung bis die Schnitte (am besten unter dem Mikroskop kontrollieren) dunkelblau erscheinen und die Kernstrukturen sich scharf abheben, während Bindegewebe etc. ungefärbt erscheinen.

6. Öfteres Wässern, mindestens 15 Minuten.

7 Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Die Hämatoxylinlösung kann öfters benutzt werden, ja sie wird bei öfterem Zuführen der eisenhaltigen Schnitte sogar besser. Man kann die Färbungsdauer abkürzen oder verlängern, je nachdem erscheinen dann die Schnitte hell- oder dunkelblau. Die Schnitte soll man sowohl in die erste Beizlösung, wie in die Farblösung derart bringen, dass man die Objektträger, auf welche die Schnitte aufgezogen sind, um Niederschläge zu vermeiden, aufrecht in die Lösung stellt.

Kerne (Chromatin) und vor allem Zentralkörper, ferner zahlreiche faserige Differenzierungen des Zelleibes (die Wimperwurzeln), Sekretgranula, Pigmentkörner, Nissl-Granula, des weiteren die Streifen der quergestreiften Muskelfasern und manches andere wird so dargestellt.

Statt der wässerigen Hämatoxylinlösung kann man folgende benutzen:

Hämatoxylin 1 ccm,
Alkohol 10 ccm,
Wasser 90 ccm.

Die Lösung muss erst mindestens 4 Wochen lang reifen. Schnitte bleiben hierin 24—36 Stunden, nachdem sie in der Beizflüssigkeit 6—12 Stunden verweilt haben. Die Differenzierung geht wie oben beschrieben vor sich.

Nach Heidenhain treten vor allem die Zentrosomen noch deutlicher hervor, wenn man vor der Beize mit Eisenalaun mit einer dünnen Lösung von Bordeauxrot 24 Stunden vorfärbt. Chromatin und Plasma nehmen dann das Bordeauxrot auf, die Zentrosomen nicht. Während der Nachfärbung mit Hämatoxylin, des Differenzierens etc. gibt dann der gesamte Zelleib (und zumeist das Chromatin der Kerne) diese Färbung leichter wieder ab, und das Zentralkörperchen hebt sich so noch schärfer durch seine Färbung ab (sogenannte Präokkupationsmethode).

Hier erwähnt werden soll noch

4. Baumgartensche Methode zur gleichzeitigen Darstellung von Mitosen und Tuberkelbazillen.

1. Fixieren und Härten in 0,2 %iger Chromsäurelösung mehrere Wochen lang, Wässern; Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten, Schneiden.

2. Färben der Schnitte 24 Stunden in:
Anilinwasser 100 ccm,
gesättigte Lösung von Methylviolett in absolutem Alkohol 11 ccm.
3. Differenzieren in Salzsäurealkohol bis nur noch die Tuberkelbazillen gefärbt sind.
4. Waschen in 70%igem Alkohol.
5. Färben in gesättigter alkoholischer Fuchsinlösung 5—10 Min. (oder in verdünnter Fuchsinlösung und zwar 8—10 Tropfen der gesättigten alkoholischen Fuchsinlösung auf 10 ccm Wasser, 24 Stunden).
6. Ganz kurzes Abspülen in absolutem Alkohol.
7. Gegenfärben in gesättigter wässeriger Methylenblaulösung etwa 5 Minuten (oder wenn mit verdünnter Fuchsinlösung vorgefärbt 5—10 Sekunden).
8. Entwässern in absolutem Alkohol; Xylol, Balsam.
Die Mitosen erscheinen rot, die Bazillen violett.

Die **Kernkörperchen** färben sich im Gegensatz zu dem Kern mit sauren Farbstoffen und lassen sich so leicht erkennen. Sie treten bei dem Ehrlichschen Triacidgemisch und besonders bei den verschiedenen Modifikationen der Romanowsky-Färbung (s. unter Blut) deutlich hervor, in letzterem Falle rot gefärbt in den blauen Kernen. Sehr schön gelangen sie auch bei der Weigertschen Fibrinmethode und ferner bei Safraninfärbungen mit Differenzierung in Säurealkohol zur Darstellung und des weiteren bei der Bielschowsky-Methode (s. nächstes Kapitel), wenn man bei letzterer stark mit Wasser differenziert, endlich auch bei der Hüter-Schüninoffschen Bindegewebsfärbung bei Vorfärbung mit Lithionkarmin (Kernkörperchen dunkelviolett), bei der Mallory-Färbung, Pasinischen und vielen anderen.

E. Methoden zur Darstellung besonderer Protoplasmastrukturen.

Hier kommen zunächst die Methoden zur Darstellung der **Altmannschen Zellgranula** in Betracht.

1. Methode von Altmann.

1. Fixierung sehr frisch entnommener kleiner, dünner Gewebsstücke in gleichen Teilen von 2,5%iger Lösung von Kalium bichromicum und 2%iger Lösung von Überosmiumsäure 24 Stunden. Auswaschem in Wasser mehrere Stunden lang, Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten in Paraffin. Schneiden dünner Schnitte, Aufkleben derselben, Entparaffinieren, Übertragen in absoluten Alkohol, sodann in dünnen Alkohol.

2. Färben unter Erwärmen bis Dämpfe aufsteigen in:
Säurefuchsin 20 gr,
Anilinwasser 100 ccm
(das gesättigte Anilinwasser stellt man so her, dass man einen Überschuss von Anilinöl mit destilliertem Wasser gut durchschüttelt, sodann stehen lässt und durch ein gut angefeuchtetes Filter filtriert. Das Filtrat stellt das kaltgesättigte Anilinwasser dar).

3. Nach dem Erkalten Differenzieren in einer Mischung von einem Teil gesättigter alkoholischer Pikrinsäurelösung und 7 Teilen 20%igen Alkohols.

Erneuern dieser Pikrinsäurelösung und vorsichtiges Erwärmen bei 42 Grad am besten im Brütofen oder auf dem Paraffinofen eine halbe bis eine Minute, bis die Schnitte einen hellgelblichroten Ton haben.

4. Entwässern in Alkohol. Xylol. Balsam.

Die Kerne sind nicht gefärbt, das Protoplasma graugelblich, die Altmannschen Granula rot, wenn fetthaltig schwarz (Osmiumsäure) Fettkörnchen und -tropfen ebenfalls schwarz.

2. Modifikation der Altmannschen Methode von Schridde.

1. Fixierung lebenswarmer Objekte im Orthschen Gemisch 24 Stunden (mit destilliertem Wasser herstellen).

2. Gründliches Auswaschen in oft zu wechselndem dest. Wasser etwa 24 Stunden.

3. Einlegen in 1%ige Osmiumsäurelösung im Dunkeln 24 Stunden.

4. Gründliches Wässern in fliessendem Wasser 12 Stunden.

5. Nachhärten in steigendem Alkohol (beginnend mit 50%igem, fortschreitend bis zum absoluten) im Dunkeln.

6. Einbetten in Paraffin von 58° Schmelzpunkt mittelst der Chloroformmethode (s. S. 65).

7. Schneiden sehr dünner Schnitte (1—2 μ). Aufkleben nach der sogenannten japanischen Methode. Entparaffinieren.

8. Übertragen in absoluten Alkohol.

9. Übertragen in 96%igen, 85%igen Alkohol etc. bis in Aqua destillata.

10. Übertragen in die oben angegebene Altmannsche Anilinwasser-Säurefuchsinlösung. Am besten giesst man die Farblösung auf die Objektträger und erwärmt über der Flamme bis Dämpfe aufsteigen, etwa 5 bis 15 Minuten und lässt dann erkalten.

11. Differenzieren in konzentrierter alkoholischer Pikrinsäurelösung 1 Teil, 20%igem Alkohol 7 Teile.

12. Entwässern in 96%igem, sodann in absolutem Alkohol. Xylol, Balsam. Aufhellen in Chloroform oder Toluol.

Die Differenzierung wird in der Weise auf dem Objektträger vorgenommen, dass man (nachdem man den Objektträger um den Schnitt herum mit Filtrierpapier gesäubert hat) den Pikrinsäurealkohol öfters auf den Objektträger giesst, ablaufen lässt und den Objektträger mit der Flüssigkeit hin und her bewegt bis der Schnitt einen hellgelblichroten Farbton zeigt.

13. Einschliessen in Balsam.

Die Körnelung der verschiedenen Zellen zeigt verschiedene Farbnüancen; so sollen die neutrophilen Granula bräunlichrot, die eosinophilen schwarzrot, Plasmazellengranula ziegelrot, Mastzellengranula schwarzgrau dargestellt sein, die basophilen Granula ungefärbt erscheinen, aber deutlich erkennbar sein, in den Lymphozyten (sowie nach neueren Untersuchungen auch in anderen Zellen) bräunlichrot gefärbte Körnchen erscheinen. Im Magen färben sich die Belegzellen und Hauptzellen different, indem erstere violette, letztere rotbraune Granula aufweisen.

Man kann auch die Osmierung erst nach dem Schneiden an den Schnitten und zwar etwa $^1/_2$ Stunde lang (bei Luftabschluss) vornehmen.

Hat man nicht in Orthschem Gemisch, sondern in Formol gehärtet, so beizt man die mit den Schnitten bedeckten Objektträger 12 bis 24 Stunden mit einer 5%igen Lösung von Kalium bichromicum im Brutschrank und behandelt dann auch erst die Schnitte mit der Osmiumsäure (2 Stunden bezw. länger), wie oben angegeben, weiter. Hat man von vornherein auch auf Granula zu färben, so ist die obige Methode die sicherste.

3. Galeottische Methode, besonders für Granula sezernierender Epithelien etc.

1. Fixieren in ganz frischen Stückchen in Hermannscher Flüssigkeit (Platinchlorid ersetzt durch Palladiumchlorid) 24—48 Stunden.
2. Waschen in fliessendem Wasser 3—4 Stunden.
3. Entwässern in steigendem Alkohol. Paraffineinbetten. Aufkleben der Schnitte. Entparaffinieren absol. Alkohol. 70%igem Alkohol.
4. Einlegen in in Anilinwasser gesättigtes Säurefuchsin bei 60°, 5 Min.
5. Waschen in fliessendem Wasser.
6. Einlegen in gesättigte alkohol. Lösung von Pikrinsäure 1 Teil, Wasser 2 Teile, einige Sekunden.
7. Waschen in fliessendem Wasser.
8. Färben in $^1/_2$%iger Lösung von Methylgrün in Alkohol und Wasser ana 3—4 Min.
9. Gründliches Wässern in destilliertem Wasser.
10. Entwässern in absol. Alkohol bis kein Methylgrün mehr abgegeben wird.
11. Xylol, Balsam.

Kerne (ausser Nukleolen) und Körnchen des Cytoplasma rot, dergl. azidophile Granulationen. Protoplasma-Grund gelblichgrün, basophile Granulationen (z. B. Mucin) lebhaft grün.

4. Zur Darstellung der Zellgranula kann man auch die schon auf Seite 21 erwähnte vitale bezw. supravitale Färbungsmethode anwenden. Besonders Arnold hat mit diesen Methoden sehr wertvolle Kenntnisse ermittelt.

5. Zahlreiche Zellen sollen ein oxydierendes Ferment besitzen, welches sich in der Naphtholblausynthese (Bildung von Indophenol) bei Behandlung mit *a*-Naphthol und Dimethyl-p-Phenylendiamin kundgibt. Es ist dies die

Oxydase-Reaktion von Walther Schultze.

Sie wird folgendermaßen ausgeführt:

Entweder nimmt man (am besten durch Formoldämpfe fixierte) Ausstrichpräparate oder Gefrierschnitte nach Formolhärtung. Benötigt werden folgende Lösungen:

1. 1 gr α-Naphthol wird in 100 ccm destilliertem Wasser zum Sieden erhitzt, das α-Naphthol schmilzt und schwimmt in dem Wasser. Man giesst nun reine Kalilauge hinzu bis alles Naphthol gelöst ist, in der Regel etwa 1 ccm. Die Lösung erscheint zunächst gelb, später mehr gelblichbraun.

2. 1%ige wässerige Lösung von Dimethyl-p-Phenylendiamin (Merck) bei Zimmertemperatur hergestellt und filtriert.

Die Schnitte werden zunächst in Lösung 1 einige Minuten, dann in Lösung 2 unter leichtem Hin- und Herbewegen ebenfalls einige Minuten eingelegt, in destilliertem Wasser abgespült und in diesem auf dem Objektträger unter einem Deckglas untersucht.

Die die Oxydase-Reaktion aufweisenden Körnchen sind tiefblau gefärbt (Indophenol). Man kann statt des Wassers zum Einschluss auch Glyzerin-Gelatine verwenden, doch verschwindet in beiden Fällen die Reaktion besonders an Schnittpräparaten bald. Die Methode ist besonders zur Unterscheidung der Blutzellen wichtig (s. unter Blut).

Um an älterem Material Dauerpräparate herzustellen, empfiehlt Fursenko folgende Modifikation des Verfahrens:

1. Fixation in der 1. Kaiserlingschen Lösung (zuweilen geht es auch bei Fixation in Orthschem Gemisch) 48 Stunden.

2. Auswaschen in fliessendem Wasser 12 Stunden.

3. Härten ganz kleiner Stücke in steigendem Alkohol je 10 Minuten.

4. Aufhellen in:

Alkohol abs. + Xylol ana,
" " 1 + " 2.
" " 1 + " 4,
" " 1 + " 8.

je 10 Minuten.

Durchtränken:

Xylol + Paraffin ana
bei 40° 15 Minuten.
reines Paraffin 15 Minuten.

Einbetten, Schneiden 3 μ dicker Schnitte, Aufkleben auf Deckgläschen, trocknen mit Filtrierpapier und völlig trocknen durch 10—15 Minuten langes Verweilen im Thermostat.

5. Behandeln der Schnitte mit obiger α-Naphthollösung wie oben angegeben.

6. Desgl. mit obiger Lösung von Dimethyl-p-Phenylendiamin aber 15—30 Minuten bei 37—40°.

7. Entwässern in 90%igem Alkohol.
8. Desgl. in Alkohol abs.
9. Aufhellen in Xylol.
10. Einschliessen in Kanadabalsam (der ganz neutral sein muss).

Man kann auch die Kerne gegenfärben indem man:

7. Ein- bis zweimal die Schnitte kurz in gesättigte wässerige Lösung von Neutralrot eintaucht,
8. in destilliertem Wasser abwäscht und mit Filtrierpapier trocknet,
9. in reinem Aceton entwässert und
10. in neutralen Kanadabalsam einschliesst

oder:

7. 1—2 Sekunden in folgender Lösung färbt:

Lösung I:
Methylgrün 5 gr,
Acid. carbol. 0,25 gr.
Aqua dest. 100 ccm.

Lösung II:
Pyronin 5 gr,
Acid. carbol. 0,25 gr,
Aqua dest. 100 ccm.

Man mischt:
Lösung I 7 Teile,
Lösung II 5 Teile,
Aqua dest. 13 Teile.

8. Auswaschen in Aqua dest.
9. Entwässern in Alkohol.
10. Aufhellen in Xylol.
11. Einbetten in neutralen Kanadabalsam.

Das Verfahren, das sich uns sehr gut bewährt hat, gelingt auch an älteren in Formol aufbewahrten sowie an alten nach dem Kaiserling-schen Verfahren konservierten Präparaten; nur stellt man dann am besten Gefrierschnitte her und verfährt wie oben angegeben.

Zelleinschlüsse, welche in manchen Zellen als sogenannte Russelsche Fuchsinkörper auftreten, färben sich folgendermaßen:

6. Methode von Russel:

1. Fixieren und Härten in Müllerscher Flüssigkeit, Waschen, Entwässern in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin oder besser in Paraffin, Schneiden, Aufkleben der Schnitte, Entparaffinieren, Xylol. Übertragen in absoluten Alkohol, dünnen Alkohol, Wasser.

2. Färben der Schnitte in einer gesättigten Lösung von Fuchsin in 2%igem Karbolwasser, 10 Minuten oder etwas länger.

3. Wässern einige Minuten.

4. Auswaschen in absolutem Alkohol $^1/_2$ Minute.

5. Gegenfärbung in: 1 gr Jodgrün gelöst in 100 ccm 2%iger wässeriger Karbolsäurelösung, 5 Minuten.

Der Schnitt muss gut ausgebreitet sein.

6. Ganz kurzes Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol, Balsam.

Die Kerne erscheinen grün, die Russelschen Fuchsinkörper hellrot, auch die Altmannschen Granula sind und zwar hellrot mitgefärbt.

Andere Zelleinschlüsse werden bekanntlich von manchen Autoren, wenn auch fälschlicherweise, für Lebewesen, besonders Krebserreger, gehalten, und färben sich z. B. nach der

7. Methode von Pianese:

Nach besonderer Härtung färben in einem Farbengemisch, welches von Arnold auch zur (hellroten) Darstellung der Altmannschen Granula empfohlen wird.

Wegen Details sei auf die Pianesesche Arbeit (Arch. parasit., Paris 1899, T. 2, S. 412) verwiesen.

8. In zahlreichen Zellen, besonders Drüsenzellen und Nervenzellen sind von Holmgren Trophospongienkanälchen nachgewiesen worden.

Von mehreren Holmgrenschen Methoden sei folgende kurz erwähnt:

1. Fixieren in 2,5 %iger Trichloressigsäure oder in 5 %iger Trichlormilchsäure 8—24 Stunden.

2. Härten in steigendem Alkohol ganz allmählich in 40, 50, 60, 70, 82, 96 %igem absolutem Alkohol je 24 Stunden, Einbetten, Schneiden, Schnitte von 2—5 μ, Entparaffinieren in Xylol, absolutem Alkohol.

3. Färben in einer frisch bereiteten verdünnten Lösung der Weigertschen Elastikafarbflüssigkeit (s. Kapitel XI) und zwar etwa 150 ccm dieser mit 50 ccm 96 %igen Alkohols verdünnt, 24 Stunden.

4. Differenzieren in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Für die Kanälchen der Spinalnervenzellen ist eine Methode von Kopsch mit Überosmiumsäure vorzuziehen. Die Ramòn y Cajalsche Methode zur Darstellung des Golgi-Holmgrenschen netzförmigen Apparates bedient sich der Versilberung und Reduktion in Pyrogallol-Formol.

F. Methoden zur Darstellung der Granula der Plasma- und Mastzellen.

Die zahlreichen Methoden, welche bestimmt charakterisierte Granula einzelner Zellarten darstellen, sollen in dem Kapitel Blut ihre Besprechung finden, so die eosinophilen, neutrophilen etc. Zellen. Hier sollen nur Methoden erwähnt werden, welche zur Darstellung der mehr allgemein im normalen oder pathologisch veränderten Gewebe verbreiteten Mastzellen und Plasmazellen angegeben wurden.

1. Unnasche Methode mit polychromem Methylenblau.

1. Härten in absolutem Alkohol: auch Formol oder Orthsches Gemisch zu empfehlen. Einbetten in Celloidin oder Paraffin, evtl. Gefrierschnitte.

2. Färben in (am besten von Grübler zu beziehendem) Unnaschem polychromen Methylenblau etwa 10 Minuten.

3. Abspülen in destilliertem Wasser einige Minuten.

4. Differenzieren in der Unnaschen Glyzerin-Äthermischung (die am besten von Grübler bezogen und mit destilliertem Wasser im

Überschuss verdünnt wird), $^1/_2$ oder mehrere Minuten bis der Schnitt kornblumenblau erscheint.

5. Gutes Abspülen in Wasser mehrere Minuten.

6. Kurzes Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam (neutraler). Die Mastzellengranula erscheinen metachromatisch rot gefärbt (desgleichen Schleim und Amyloid), Plasmazellengranula blau (desgleichen Kerne und Bakterien).

Bei Celloidinschnitten ist es oft vorteilhaft, dieselben aufzukleben und vor der Färbung das Celloidin zu entfernen, aufgeklebte Schnitte (Celloidin- wie Paraffinschnitte) müssen etwas länger in den einzelnen Flüssigkeiten bleiben. Das polychrome Methylenblau enthält höhere Oxydationsstufen des Methylenblaus, so Methylenviolett und Methylenazur.

Unter den Methoden zu seiner Darstellung soll folgende von Michaelis angegeben werden.

Man kocht 200 ccm einer 10%igen wässerigen Methylenblaulösung mit 10 ccm einer $^1/_{10}$ normalen Natronlaugelösung 15 Minuten und neutralisiert nach dem Erkalten genau mit 10 ccm einer $^1/_{10}$ normalen Schwefelsäure. Am besten ist es jedoch, die fertige Lösung des polychromen Methylenblaues von Grübler zu beziehen.

2. Unna-Pappenheimsche Pyronin-Methylgrünmethode.

1. Härten in absolutem Alkohol, oder Formol, oder Orthschem Gemisch, Einbetten in Celloidin oder Paraffin, eventl. Gefrierschnitte. Die Schnitte sollen aufgeklebt und entparaffiniert bezw. entcelloidiniert werden.

2. Färben in:

Methylgrün 00 Cryst. gelblich (Grübler) 0,15 gr,
Pyronin 0,25 gr,
96%iger Alkohol 2,5 ccm,
Glyzerin 20,0 ccm,
0,5%iges Karbolwasser 100 ccm (d. h. Wasser 100 ccm, kryst. Karbolsäure 0,5 gr).

Hierin bleiben die Schnitte eventl. unter Erwärmen 10—15 Minuten, man kühlt dann rasch ab.

3. Abspülen in Wasser mehrere Minuten.

4. Differenzieren in 70%igem Alkohol. Kontrolle unter dem Mikroskop.

5. Kurzes Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Am besten wird auch die obige Mischung fertig von Grübler bezogen.

Das Protoplasma der Plasmazellen ist tiefrot, wobei sich ein schmaler ungefärbter Hof, welcher für die Plasmazellen charakteristisch ist, um den blaugrün gefärbten Kern (mit der sogenannten Radstruktur) besonders deutlich abhebt.

Die Methode stellt eine Unnasche Modifikation, welche auch die Verwendung von Schnittpräparaten erlaubt, der ursprünglichen Pappenheimschen Methode dar.

3. Ehrlichsche Mastzellenmethode.

Ursprünglich empfahl Ehrlich für die von ihm entdeckten Mastzellen folgende Färbung:

1. Härten in absolutem Alkohol. Einbetten. Schneiden.
2. Färben mit gesättigter wässeriger Lösung von Dahlia.
3. Auswässern.
4. Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Anhang.

Stückdurchfärbung.

Ausser der Färbung einzelner Schnitte kommen auch Durchfärbungen ganzer Stücke, welche erst später in Schnitte zerlegt werden sollen, in Betracht. Sie brauchen dann nachher naturgemäß nur noch nach dem Schneiden in Balsam eingebettet zu werden. Diese in der normalen Histologie und besonders beim embryologischen Arbeiten so sehr viel gebrauchte Methode findet aber in der pathologischen Histologie nur sehr geringe Anwendung, da man hier ja nur selten im voraus weiss, ob man mit einer Art von Färbung auskommen kann oder ob nicht die verschiedenartigsten Färbungen sich als notwendig erweisen. Immerhin kann man auch an durchgefärbten Stücken noch manche andere Färbung anschliessen, z. B. an Karmindurchfärbung solche auf elastische Fasern oder Bakterien, doch ist dann der Zweck der Stückfärbung ziemlich illusorisch. Ist die Methode also auch sehr wenig zeitraubend, schnell und einfach, so kann ihre Verbreitung hier doch keine sehr grosse sein. Bei der Stückfärbung sind folgende Maßregeln zu beachten:

1. Es sollen nur kleine Gewebsstücke in die Fixierungsflüssigkeit eingelegt werden, damit sie gut durchgefärbt werden.

2. Aus der Fixierungsflüssigkeit kommen die Gewebsstücke, evtl. nach Wässern, in die Farbflüssigkeit, welche weit länger als an Schnitten, und zwar mehrere Tage — in der Regel genügen 2—6 Tage — einwirken muss.

3. Es muss dann Wässern folgen und zwar so lange bis stärkere Farbwolken nicht mehr abgehen.

4. Es wird sodann in steigendem Alkohol nachgehärtet, eingebettet, geschnitten und die Schnitte aufgezogen und eingeschlossen.

Zur Färbung im Stück dienen in der Regel alkoholische Farbstofflösungen. Zu empfehlen sind besonders die saure alkoholische Karminlösung von Mayer, das Bealesche Karmin (s. Seite 96), alkoholische Lösungen von Hämatoxylin oder, Hämatein, oder von Anilinfarben, besonders Bismarckbraun.

Zu empfehlen ist folgendes neuere Verfahren von Schridde, welches Härtung und Durchfärbung gleichzeitig vornimmt.

1. Möglichst frische kleine Objekte werden 3—4 Tage eingelegt in:

Alaunkarmin 9 Teile,
40 % iges Formol 1 Teil.

Das Alaunkarmin wird folgendermaßen hergestellt: 5 gr Kalialaun werden unter Erwärmen in 100 ccm Wasser gelöst, nach dem Erkalten filtriert, 1 gr Karmin hinzugefügt, einige Minuten gekocht und nach dem Erkalten wiederum filtriert.

2. Wässern im fliessenden Wasser 24 Stunden.

3. Einlegen in:

75 %igen Alkohol 200 Teile,
25 %ige Ammoniaklösung 1 Teil,
12 Stunden.

Bei sehr blutreichen Organen, wobei man starke Formolniederschläge erwarten kann, nimmt man besser

75 %igen Alkohol 100 Teile,
25 %ige Ammoniaklösung 1 Teil,

und lässt die Stücke nur 6 Stunden hierin.

4. Direktes Übertragen in 96 %igen Alkohol.

5. Entwässern in absolutem Alkohol, Einbetten (in Paraffin).

Kapitel XI.

Darstellung der Intercellularsubstanzen.

(Bindegewebe und elastisches Gewebe.)

A. Bindegewebe und Bindegewebsfibrillen.

Im allgemeinen werden das Bindegewebe und die kollagenen Fasern mit den bei den Plasmafärbungen besprochenen sauren Anilinfarben ausgezeichnet dargestellt. Ganz besonders kommt hier in Betracht:

1. Die Methode nach van Gieson.

Am besten in Verbindung mit der Weigertschen Eisenhämatoxylinfärbung auf Kerne, so wie sie bereits auf Seite 112 dargestellt ist. Hier färbt sich das kollagene Bindegewebe leuchtend rot, während glatte wie quergestreifte Muskulatur, hyaline Substanzen (zumeist) und Neuroglia gelb dargestellt sind und sich somit deutlich vom Bindegewebe abheben.

Die allerfeinsten Fibrillen färben sich aber mit dieser Methode nicht, und doch kann es gerade auf diese ausserordentlich ankommen, z. B. zur Unterscheidung von Sarkom und Karzinom. Des weiteren gibt es intercelluläre Substanzen feinster Natur, welche auch schwer darstellbar sind, es sind dies die bekannten von v. Kupffer entdeckten Gitterfasern der Leber, welche aber auch in anderen Organen, so dem Pankreas vorkommen, ferner die feinsten Fasern im Gerüstwerk der Milz, Lymphdrüsen etc.

Auch diese feinsten kollagenen bezw. ihnen nahestehenden Fasern und Fibrillen werden mit folgenden, mehr für das Bindegewebe spezifischen Methoden dargestellt. In allererster Linie ist hier zu empfehlen:

2. Die Methode der Silberimprägnierung nach Bielschowsky.

Diese Methode wurde zuerst von Bielschowsky zur Darstellung der Neurofibrillen angegeben und hat dort besondere Bedeutung gewonnen. Sie wurde von Maresch und anderen zur Färbung der Bindegewebsfibrillen angewandt und hat mir, der ich sie von Anfang an auch zur Bindegewebsfibrillendarstellung in den verschiedensten Organen ver-

wandte, stets ausgezeichnete Dienste geleistet. Später hat Bielschowsky, gerade weil sich bei seiner Methode ausser den Neurofibrillen die Bindegewebsfibrillen mitfärben, eine Essigsäuredifferenzierung eingeführt, welche das Bindegewebe entfärbt, während die Neurofibrillen gefärbt bleiben und somit als solche erkannt werden können. Zur Färbung der Bindegewebsfibrillen dürfen wir naturgemäß nicht diese Modifikation verwenden, sondern die ursprüngliche Methode. Diese wird folgendermaßen ausgeführt:

1. Fixieren in Formol (10%iges, 24 Stunden). Anfertigen möglichst dünner (5 μ) Gefriermikrotomschnitte, Auffangen derselben in destilliertem Wasser.

2. Übertragen derselben in 2—3%ige Lösung von Argentum nitricum in destilliertem Wasser 24 Stunden oder besser 48 Stunden.

3. Ganz kurzes Durchziehen durch destilliertes Wasser.

4. Einlegen in folgende Lösung: Man setzt zu 10 ccm 10%iger Argentum nitricum-Lösung 5 Tropfen möglichst reiner 40%iger Natronlauge. Es bildet sich hierbei ein Niederschlag, welchen man unter stetigem Umrühren mit einem Glasstab durch tropfenweises Zusetzen von Ammoniak löst. Man darf kein überschüssiges Ammoniak zusetzen, sondern nur soviel, dass der Niederschlag gerade gelöst wird. Am besten lässt man noch eine Spur Niederschlag darin und filtriert; dann füllt man durch Zusatz von Aqua dest. auf 20 ccm auf. Diese Lösung enthält die leicht reduzierbaren Silbersalze: Silberammoniumnitrat und Silberoxydammonium. Die Schnitte bleiben hierin 2—30 Minuten, in der Regel genügen etwa 5 Minuten.

5. Abspülen in destilliertem Wasser.

6. Übertragen in 20%ige Formollösung einige Minuten bis etwa $^1/_2$ Stunde, bis keine weissen Wolken mehr aufsteigen. Hierin geht die Reduktion zu metallischem Silber vor sich. Die Schnitte erscheinen nunmehr graubraun bis schwarz. Das dieser Reduktion vorangehende destillierte Wasser dient als eine Art Differenzierung, d. h. man bemisst die Dauer, auf welche die Schnitte in das destillierte Wasser eingetaucht werden, je nach dem dunklen Ton, welchen man den Schnitten bei der Reduktion geben will. In der Regel soll also das Durchziehen durch das destillierte Wasser kurz sein, nur wenn man sieht, dass die ersten Schnitte dann in der Formollösung zu dunkel werden, lasse man die nächsten Schnitte etwas länger in destilliertem Wasser liegen.

Mit der Reduktion ist die Versilberung der Schnitte vollendet. Man vergoldet aber die Teile, auf welchen sich das reduzierte Silber niedergeschlagen hat, d. h. die Bindegewebsfibrillen, besser, da hierdurch die Darstellung derselben eine dunklere auf farblosem Grund und eine haltbarere wird. Daher:

7. kurzes Wässern.

8. Einlegen der Schnitte in ein Goldbad: 10 ccm dest. Wasser mit etwa 5 Tropfen 1%iger Goldchloridlösung (und evtl. 2—3 Tropfen Eisessig) 10 Minuten.

9. Entfernen des etwa noch nicht reduzierten Silbers durch Einlegen der Schnitte in 5%ige Lösung von Fixiernatron (der evtl. 1—2 Tropfen gesättigte Natriumsulfitlösung zugesetzt sind) $^1/_2$—1 Minute.

10. Gründliches Auswaschen in Wasser.

11. Kurzes Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol oder Karbolxylol, Kanadabalsam.

Die Bindegewebsfibrillen, auch die feinsten, sind tiefschwarz auf ganz hellem Grund imprägniert, derbes kollagenes Bindegewebe, wo dasselbe in breiten Zügen vorhanden ist, erscheint in der Regel mehr chokoladebraun oder violett. Auch die Kerne sind in der Regel leicht mitgefärbt; man kann sie noch (mit Anilinfarben) nachfärben. Ihr Chromatingerüst und insbesondere auch die Kernkörperchen treten bei starker Differenzierung in Wasser (s. oben) oft sehr deutlich hervor.

Bielschowsky empfiehlt Gefrierschnitte aus destilliertem Wasser in reines Pyridin (Merck) auf 24—48 Stunden zu übertragen und sie dann in destilliertem Wasser abzuspülen, bis jeder Pyridingeruch verschwunden ist. Dann wird weiter vorgegangen wie oben angegeben 2. etc.

Soll eingebettet werden, so wird folgendermaßen verfahren:

1. Härten in Formol.
2. Übertragen kleiner Stücke in Pyridin 3—4 Tage.
3. Mehrstündiges Auswaschen in destilliertem Wasser (oft wechseln).
4. Übertragen in 3%ige Argentum nitricum Lösung bei 36° 3 5 Tage.
5. Wässern in destilliertem Wasser.
6. Einbringen in wie oben angegeben hergestellte Silberoxydammoniumlösung (die man aber am besten statt auf 20 ccm auf 100 ccm mit Wasser verdünnt und der man wenige Tropfen überschüssiges Ammoniak zufügt) für 24 Stunden.
7. Wässern etwa 2 Stunden in öfters zu wechselndem Aq. dest.
8. Reduzieren in 20%igem Formol.
9. Entwässern in steigendem Alkohol. Einbetten in Paraffin. Schneiden. Aufkleben der Schnitte. Die Vergoldung wird an den Schnitten vorgenommen wie oben angegeben.

Man kann auch in Alkohol etc. (weniger gut in Sublimat) fixieren und sogar entkalken, dann in Celloidin (oder Paraffin) einbetten, in 3%iger Argentum nitricum-Lösung bis 4 Tage die Schnitte imprägnieren und nach Bielschowsky weiter behandeln (nach Studnicka).

Klebt man die Schnitte auf, so muss man die Zeiten der einzelnen Lösungen verlängern, doch ist, wenn angängig, Formolfixierung und Herstellung von Gefrierschnitten vorzuziehen.

Über die Anwendung der Methode im Nervensystem siehe dort.

Man kann auch andere Silbermethoden verwenden, so empfiehlt Ramón y Cajal seine Methode (s. Nervensystem), welche bei Nachfärbung mit basischen Anilinfarben — die gerade da färben, wo der schwache kolloidale Silberniederschlag als Beize wirkt — eine gute Darstellung des Bindegewebes ergibt.

3. Methode von Verocay.

Auch diese gibt ausgezeichnete Resultate und zeichnet sich durch grosse Einfachheit aus.

1. Fixieren in beliebiger Flüssigkeit, Gefrierschnitte, oder Einbetten in Paraffin oder Celloidin, Schneiden. Alle Schnitte, auch die Gefrierschnitte und die Celloidinschnitte, müssen gut auf Objektträger aufgeklebt werden. Es haben sich mir auch hierbei die Seite 31 und Seite 77 angegebenen Methoden bewährt.

2. Gründliches Entwässern der Schnitte.

3. Beizen in 1%iger wässeriger Lösung von Chromsäure bei 46 Grad, durchschnittlich etwa 10—24 Stunden oder noch länger, für jedes Organ verschieden und bei Formolfixierung länger nötig als bei Alkoholfixierung.

4. Gründliches Wässern in mehrmals zu wechselndem Wasser.

5. Färben in nicht zu altem Delafieldschen Hämatoxylin, $^1/_2$—2 Stunden.

6. Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Man kann zur Kontrastfärbung zwischen 5 und 6 mit Orange G, Eosin oder Pikrinsäure nachfärben. Die Bindegewebsfibrillen und -fasern erscheinen dunkelblau. Die Wässerung vor dem Beizen muss eine sorgfältige sein. Die verwandte Hämatoxylinlösung muss ziemlich frisch sein, sonst gelingt die Färbung nicht. Celloidinschnitte kann man auch unaufgeklebt mit der Methode behandeln, aber besser klebt man sie auf.

Um die Zeitdauer der Beizung herauszufinden, ist es am besten, eine grössere Reihe Schnitte in die Beize einzulegen, und alle paar Stunden einen Schnitt mit Hämatoxylin zu färben. Schon nach Färbung von etwa 20 Minuten kann man beurteilen, ob die Bindegewebsfasern sich gut darstellen, kann dann auch für die anderen Schnitte die Beizung abbrechen und mit Hämatoxylin färben, oder man sieht, dass die Beizung noch zu kurz gedauert hat, und setzt diese länger fort. Lange in Formol aufgehobene Präparate geben die Färbung erst nach sehr langem (z. B. 36stündigem) Beizen, was der Wärme wegen nicht vorteilhaft ist.

4. Ribbertsche Modifikation der Malloryschen Phosphormolybdänsäure-Hämatoxylin-Methode. (Ursprünglich für Achsenzylinder.)

1. Härten in Alkohol oder auch in anderen Fixationsmitteln. Gefrierschnitte oder Schneiden nach Einbetten in Paraffin oder Celloidin.

2. Übertragen der Schnitte (mit Glasnadeln) in 10%ige Phosphormolybdänsäurelösung in Aqua dest. $^1/_2$ Minute.

3. Kurzes Auswaschen in Wasser.

4. Färben in folgender Mischung etwa 20 Minuten:
5%ige Phosphormolybdänsäurelösung (Aqua dest.) 10 ccm,
dest. Wasser 200 ccm,
kristallisierte Karbolsäure 5 gr,
Hämatoxylin 1,75 gr.

Die Lösung soll möglichst an der Sonne stehen und ist nach 24 Stunden, besser aber noch nach einigen Wochen, benutzbar; sie soll vor dem Gebrauch filtriert werden.

5. Auswaschen in Wasser.

6. Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Die Bindegewebsfibrillen sind dunkelblau gefärbt, andere Gewebsbestandteile grau-grünlich. Die Methode ist zur schnellen Orientierung ganz geeignet.

5. Hütersche Methode.

Als eine Modifikation der Mallory-Ribbertschen Methode ist die von Schueninoff angegebene Methode für Fibrin (s. nächstes Kapitel) zu betrachten.

Statt der Phosphormolybdänsäure wird hier Phosphorwolframsäure zum Beizen verwandt. Diese Methode wurde zur Darstellung des Bindegewebes modifiziert von Hüter. Man verfährt folgendermaßen:

1. Fixieren beliebig, am besten in Formol. Gefrierschnitte oder Einbetten, Schneiden.

2. Beizen der Schnitte mit 10%iger Phosphorwolframsäure (Merck) $^1/_4$—$^1/_2$ Minute (Glasnadeln verwenden).

3. Kurzes Abspülen in destilliertem Wasser.

4. Färben in gut gereiftem Schueninoffschem Hämatoxylin.
Dasselbe enthält Hämatoxylin 1,75 gr,
Kristallisierte Karbolsäure 5,0 gr,
10%ige wässerige Lösung von Phosphorwolframsäure (Kahlbaum) 10 ccm, destilliertes Wasser 200 ccm.

Diese Lösung muss mehrere Monate an der Sonne reifen und ganz dunkel werden. Die Flüssigkeit soll ganz durchsichtig bleiben und braucht nicht filtriert zu werden. Hierin wird 10—20 Minuten gefärbt, je nach dem Alter der Lösung.

5. Differenzieren der Schnitte in mehrfach zu wechselndem 50%igem Alkohol, bis der bisher undurchsichtige rötliche Schnitt durchsichtig, und wenn reich an Bindegewebe, blau geworden ist. Man beschleunigt die Differenzierung durch Hin- und Herbewegung; sie nimmt höchstens 10—15 Minuten in Anspruch.

6. Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Die Bindegewebsfasern erscheinen tiefblau, die Kerne sind ganz blass, eventuell leicht rötlich gefärbt, desgleichen quergestreifte Muskulatur, ferner Kolloid und zuweilen Fibrin.

Man kann der Hüterschen Methode eine Vorfärbung der Kerne mit Karmin (ich verwandte mit gutem Erfolg Lithionkarmin), vorausschicken. Die Kerne werden rot, die Kernkörperchen dunkelviolett.

Hat man reife Hämatoxylinlösung zur Verfügung, so hat die Methode den Vorzug grosser Einfachheit und gibt schöne Übersichtsbilder. Alle feinsten Fibrillen, z. B. Gitterfasern, färben sich nicht mit Sicherheit mit.

6. Mallorysche Anilinblaumethode (letzte Modifikation derselben).

Auch diese Methode hat sich uns stets gut bewährt; ihr Vorteil liegt darin, dass sie ausser dem Bindegewebe noch zahlreiche andere Dinge differenziert färbt, sodass sie auch zu allgemeinen Zwecken gut anwendbar ist, sowie in ihrer fast impressionistischen Farbenpracht.

Ihr Nachteil hingegen liegt darin, dass einmal die Kerne meist nicht gut gefärbt sind, und sodann dass sie bei weitem am sichersten und besten bei Härtung in Sublimatlösungen (des weiteren, wenn auch etwas weniger gut nach Alkoholfixierung), hingegen nach Formolfixierung an sich nicht gelingt; dass dann nach Einlegen in Sublimatlösungen die Methode noch anwendbar ist, s. unten.

Man verfährt bei ihr folgendermaßen:

1. Härten in Sublimat oder Zenkerscher Lösung, Nachhärtung in steigendem Alkohol, Einbetten, Schneiden, oder Gefrierschnitte.

2. Färben in einer $^1/_{10}$ %igen wässerigen Säurefuchsinlösung (d. h. in einer mit 10 Teilen Aqua dest. verdünnten 1 %igen Lösung) etwa 5 Minuten (eventuell bis zu 15 Minuten), eventuell kurzes Abspülen in Wasser.

3. Färben der Schnitte (mit Glasnadeln oder Platinnadeln) 20 Minuten in:

Anilinblau (Grübler) 0,5 gr,
Orange G (Grübler) 2,0 gr,
1 %ige wässerige Lösung von Phosphormolybdänsäure 100 ccm.

4. Übertragen in 96 %igen Alkohol (mehrfach zu wechseln) für etwa 2 Minuten.

5. Absoluter Alkohol bezw. Origanumöl.

6. Xylol. Balsam.

Die Färbungen sind folgende: Leuchtend blau: Bindegewebsfibrillen und Reticulum, des weiteren Amyloid und andere hyaline Substanzen, sowie Schleim besonders im Magen. Rot: Kerne (aber sich nicht scharf hervorhebend), Protoplasma (mehr violett), Achsenzylinder, Neuroglia, glatte

Muskelfasern, Fibrin, Horn (besonders leuchtend orangerot bis rot). Mehr hellrot: elastische Fasern (wenig gut gefärbt). Keratohyalinkörner, Blutkörperchen. Gelbrot: Markscheiden. Die Blaufärbung des Bindegewebes tritt noch schärfer, wenn auch isoliert hervor, wenn man die Vorfärbung mit Säurefuchsin unterlässt; dann erscheinen Kerne, Protoplasma etc. gelb und die blaugefärbten Bindegewebsfibrillen und das Reticulum stechen ausserordentlich scharf hervor.

Nach Mc. Gill gelingt die Methode auch nach Formolhärtung, wenn man die Stücke oder Schnitte (letztere 5—20 Minuten) später in Zenkersche Flüssigkeit oder 2—3 %ige Kaliumbichromicumlösung einlegt, dann auswäscht und nach Mallory färbt.

Um eine bessere Kernfärbung zu erzielen, ist Vorfärbung mit Lithionkarmin sehr angebracht. Dann ist zwischen 1 und 2 einzuschieben:

1 a. Färben in Lithionkarmin 5—10 Minuten.

1 b. Differenzieren in Salzsäure-Alkohol einige Stunden.

1 c. Wässern.

Nach meinen Erfahrungen trifft dies für Zenkersche Flüssigkeit und konzentrierte wässerige Sublimatlösung, nicht aber für die Kaliumbichromicumlösung zu.

Ich empfehle Formolschnitte in konzentrierter Sublimatlösung mindestens 2—3 Stunden zu beizen und dann nach kurzem Wässern die Malloryfärbung vorzunehmen. Sie gelingt dann zwar gut, aber doch nicht so sicher und farbenprächtig als bei in Sublimatlösungen gehärteten Objekten.

Die von Wooley vorgeschlagene Differenzierung der Schnitte in Anilin-Xylol zu gleichen Teilen erscheint mir überflüssig.

6a. Modifikation von Loewenstein zur Kombinierung mit einer guten Kernfärbung.

1. Möglichst frisches Material fixieren in Alkohol, Sublimat, Orthschem Gemisch, Zenker- oder Hellyscher Lösung, am besten in Zenkerscher Mischung, weniger gut in reinem Formol.

2. Gründliches Wässern.

3. Lange Behandlung mit Alkohol 8—14 Tage, besonders nach Fixierung in Formol.

4. Einbettung in Paraffin, Celloidin, Schneiden dünner Schnitte, Gefrierschnitte eignen sich weniger.

5. Vorfärben mit Alaunkarmin 12—24 Stunden.

6. Wässern.

7. Färben in 1 %iger wässeriger Lösung von Phosphormolybdänsäure eine bis mehrere Minuten (Glasnadeln).

8. Gründliches Wässern.

9. Färben in:

Anilinblau 0,2 gr,
Orange G 1,0 gr.
Oxalsäure 1,0 gr,
destilliertes Wasser 100 ccm.

Färben 1—2 Minuten.

Sodann ist der Schnitt in Alkohol abzuspülen und unter dem Mikroskop zu kontrollieren, ob die Färbung stark genug ist, wenn nicht, kann man nochmals in die Farbe zurückbringen.

10. Abspülen in Wasser.

11. Entwässern in absolutem Alkohol. Balsam.

Die Kerne sind gut rot gefärbt. Azidophile Granula erscheinen orange, basophile blau. Manche Zellen, so Leberzellen, zeigen zweifache Färbung, nämlich gelbe Granula und graublaues Protoplasma. Die roten Blutkörperchen sind orange dargestellt. Schleim und Knorpel blau. Bei Härtung im Orthschen Gemisch erscheinen Fibrin, Neuroglia und Achsenzylinder blau; Fibrin ist bei Alkoholhärtung wie bei Fixation in Zenkerscher Flüssigkeit gelb dargestellt, die Achsenzylinder in ersterem Fall blau, im zweiten Fall ebenfalls gelb.

6b. Eine weitere Modifikation der Malloryschen Methode stammt von Loele.

1. Härten in Formol oder nach der Kaiserlingschen Methode. Weniger gut in Zenkerscher Flüssigkeit oder gar Alkohol, Einbetten in Paraffin oder Celloidin, Schneiden.

2. Färben in:

Lösung I: Erythrosin 1,0 gr, 5%ige wässerige Karbolsäurelösung 100 ccm.

Lösung II: 1%ige wässerige Phosphormolybdänsäurelösung.

Vor dem Gebrauch sind zu mischen 95 Teile von Lösung I. mit 0,5 Teilen von Lösung II.

Hierin Färben 20—30 Sekunden.

3. Abspülen in Wasser.

4. Färben in:

2%ige wässerige Karbolsäurelösung 40 ccm,

1%ige wässerige Phosphormolybdänsäurelösung 40 ccm.

Von folgender Stammlösung 20 ccm. Diese Stammlösung enthält:

Anilinblau 1,0 gr,

Ameisensäure 5,0 ccm,

1/2%ige wässerige Phosphormolybdänsäurelösung 100 ccm.

Färben in diesem Gemisch mehrere Minuten.

5. Abspülen in Wasser.

6. Färben in:

Chrysoidin 1,0 gr,

Oxalsäure 4,0 gr,

Aqua dest. 100 ccm.

10—30 Sekunden.

7. Abspülen in Wasser.

8. Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Die Kerne sind goldgelb, Bindegewebe bläulich-grünlich-schwarz, rote Blutkörperchen und Fibrin rot, Protoplasma gelb-grünlich, Zellgranula gelblich, azidophile Granula (aber inkonstant) rot gefärbt.

Besondere Vorzüge vor der Malloryschen Originalmethode haben uns diese weniger sicheren Modifikationen nicht ergeben.

Ich empfehle die Originalmethode Mallorys (s. oben) mit Vorfärbung der Kerne in Lithionkarmin. Liegt Formolhärtung vor, so werden die Schnitte vorher einige Stunden in Sublimatlösung gebeizt und dann die Mallorymethode angefügt. In dieser Weise vorgenommen gibt die Methode auch an Gefrierschnitten ausgezeichnete Resultate.

Auch die Pasinische Methode (s. unter Horn, nächstes Kapitel) färbt das Bindegewebe blau und gibt ganz ähnliche Farbresultate wie die Mallorysche Methode. Sie ist ihrer Einfachheit wegen zu empfehlen.

Auch die Mallorysche Neurogliamethode (s. dort), welche der oben besprochenen Mallory-Methode sehr ähnlich ist, stellt die Bindegewebsfibrillen dar.

7. Eine neuere Hämatoxylinmethode stammt von Heidenhain.

Man mischt: 100 ccm $^1/_2$%iger wässeriger Hämatoxylinlösung (frisch bereitet) mit 100 ccm $^1/_2$%iger wässeriger Ammoniumvanadatlösung, man lässt die Lösung „reifen", schüttelt alle 24 Stunden um und hält die Lösung, wenn sie färbt, unter Luftabschluss, am besten im Scheidetrichter unter Paraffinum liquidum. Man färbt nach Fixierung in Sublimat, Trichloressigsäure oder einem Gemisch beider (konz. Sublimatlösung 100 ccm, Trichloressigsäure 2 ccm) 5—10 Minuten, wässert gut, entwässert etc.

Bindegewebe, Knorpelgrundsubstanz, Schleim sind blau, Muskulatur goldbraun, rote Blutkörperchen, Kernkörperchen, manche Granula gelborange, Zellprotoplasma sepiafarbig dargestellt.

8. Timofejewsche Methode.

1. Fixieren in Formol, Gefrierschnitte.
2. Färben etwa $^1/_2$ Stunde in:

Methylenblau rektifiziert nach Ehrlich (Grübler) 1 gr,
physiolog. Kochsalzlösung 2000—4000 ccm.

3. Abspülen in physiolog. Kochsalzlösung.
4. Differenzieren in:

Ammoniumpikrat 0,1 gr,
physiolog. Kochsalzlösung 1000 ccm,

$^1/_2$—24 Stunden, bis die Fasern (mikroskop. Kontrolle) eine bläulichviolette Färbung aufweisen.

5. Einschliessen in:

Obige Ammoniumpikratlösung 35 ccm,
Glyzerin 50 ccm,
Aqua dest. 50 ccm,

oder einlegen

6. In 8%ige wässerige Lösung von Ammoniummolybdänicum.
7. Wässern.
8. Entwässern in abs. Alkohol.
9. Xylol, Balsam.

Alles Bindegewebe soll violett gefärbt, glatte Muskelfasern und Protoplasma der Drüsenzellen sollen gelb, elast. Fasern garnicht, Nervenfasern hellgelb, Schwannsche Scheiden hellviolett dargestellt sein. Schiesst man in Balsam ein, so sollen Protoplasma und kollagene Fasern hellblau, Gitterfasern (Leber) dunkelblau erscheinen.

Mir hat die Methode keinerlei brauchbare Resultate ergeben.

9. Trainasche Methode.

1. Fixieren in Sublimat oder Zenkerscher Lösung, Einbetten, Schneiden.
2. Beizen der Schnitte in frisch hergestellter 1%iger wässeriger Resorzinlösung, 2 Stunden.
3. Kurzes Wässern.
4. Färben 10 Minuten in 1%iger wässeriger Lösung von Akridinrot.
5. Wässern ganz kurz.
6. Färben 1—2 Minuten in:

gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung 95 ccm,
1%ige wässerige Wasserblaulösung 5 ccm.

7. Kurzes Wässern.

8. Kurzes Entwässern in mehrfach zu wechselndem Alk. absol.

9. Xylol. Balsam.

Das Bindegewebe ist himmelblau, Protoplasma grasgrün, Kolloid und Kerne sind rot gefärbt.

Auch diese Methode hat wenig Vorzüge, vor allem mit der Mallory schen verglichen.

10. Des weitern seien hier die Unnaschen Methoden erwähnt und zwar:

1. Die polychrome Methylenblau-Orceïnmethode,
2. die Safranin-Wasserblau-Tanninmethode,
3. die Wasserblau-Orceinmethode,
4. die Säurefuchsin-Pikrinsäuremethode.

Während im übrigen auf die Unnaschen Originalvorschriften (z. B. Monatshefte für praktische Dermatologie, Band 36) verwiesen sei, soll hier nur die ersterwähnte Methode mitgeteilt werden.

Unnasche polychrome Methylenblau-Orceïn-Methode.

1. Fixieren am besten in absolutem Alkohol. Einbetten. Schneiden.
2. Färben in polychromem Methylenblau 5—10 Minuten.
3. Abspülen in Wasser.
4. Den Schnitt mit möglichst wenig Wasser übertragen zur Differenzierung in: 1%ige Lösung von neutralem Orceïn in absolutem Alkohol 15 Minuten.
5. Entwässern in absolutem Alkohol.
6. Xylol, Balsam.

Die Kerne sind dunkelblau, Protoplasma hellblau, kollagenes Gewebe dunkelrot, Plasmazellen grünlich-bläulich, Mastzellengranula rot gefärbt.

11. Verdauungsmethode nach Mall.

1. Man lässt Gefriermikrotomschnitte von frischem Gewebe zur Verdauung 24 Stunden in folgender Lösung:

Pankreatin (Parke, Davis und Co.) 5 gr,
Natriumbikarbonat 10 gr,
Wasser 100 ccm.

2. Gründliches Wässern.

3. Übertragen der Schnitte in ein Reagenzgefäss, welches halb mit Wasser gefüllt ist, und gründliches Schütteln, um allen Zelldetritus fortzuschaffen.

4. Aufziehen auf Objektträger, trocknen lassen.

5. Auftragen und Eintrocknenlassen einiger Tropfen folgender Lösung auf dem Schnitt:

Pikrinsäure 10 gr,
absoluter Alkohol 33 ccm,
Wasser 66 ccm.

7. Auswaschen in der obigen Pikrinsäurelösung 2 Sekunden.

8. Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Die von Mallory für seine sogenannten Fibrogliafasern angegebene Methode hat keine allgemeine Verbreitung gefunden.

Fassen wir die Bindegewebs-Methoden zusammen, so sind zur schnellen Orientierung die van Gieson- und Mallory-Methoden in ihren obigen Ausführungen, sowie zur mehr spezifischen Bindegewebsfärbung, die Hütersche und eventuell Ribbert-Mallorysche, zur sicheren Darstellung auch der feinsten Fibrillen aber nur die Bielschowsky- und Verocay-Methode besonders warm zu empfehlen.

B. Elastische Fasern.

Es ist bereits erwähnt, dass die elastischen Fasern sich mit Karbol-Fuchsin zuweilen mitfärben. Auch ihre Färbung bei der oben angegebenen Malloryschen Methode tritt zwar zuweilen, aber keineswegs mit Sicherheit ein. Wir besitzen jedoch eine Reihe speziell für elastische Fasern angegebener Methoden. Diese können wir einteilen:

1. In die Methoden, welche nicht elektiv genug, oder nicht sicher genug, oder zu kompliziert sind, als dass sie neben den gleich zu erwähnenden vorzüglichen Färbungen heute anderes als historisches Interesse darbieten können.

Hier erwähnt seien: die Benekesche Modifikation der Weigertschen Fibrinmethode, die Methoden Karl Herxheimers, Martinottis, Mibellis, Manchots, Wolters, die ältere von Unna etc. Hierher zu rechnen ist auch noch die ältere Methode von Unna-Tänzer, welche allerdings der Ausgangspunkt für die gleich zu erwähnende Unnasche Methode war.

2. Die modernen ausgezeichneten Färbungen auf elastische Fasern einmal von Weigert, sodann von Unna. Wir ziehen die erstere bei weitem vor.

1. Weigertsche elastische Fasernmethode.

Die benötigte Farblösung wird folgendermaßen hergestellt.

In einem Porzellangefäss mischt man:

Resorzin 4 gr,
Fuchsin (Grübler) 2 gr,
Wasser 200 ccm.

Man kocht und fügt, nachdem die Lösung in völliges Kochen geraten ist, 25 ccm Liquor ferri sesquichlorati (Pharm. Germ. 3 spez. Gew. 1,1) zu.

Unter gutem Umrühren lässt man noch 5 Minuten kochen. Der hierbei gebildete Niederschlag wird nach dem Erkalten der Lösung filtriert. Das Filtrat wird fortgegossen und das Filter mit seinem Niederschlag vorsichtig von dem Trichter abgehoben und in das bereits gebrauchte Porzellangefäss gebracht (welches am Rand noch inzwischen trocken gewordene Spuren des Niederschlages enthält). Es werden 200 ccm 94%igen Alkohols darüber gegossen und unter tüchtigem Umrühren gekocht. Hierbei löst sich der Niederschlag, und das von ihm befreite Fliesspapier wird allmählich herausgefischt und weggeworfen. Die Lösung lässt man sodann erkalten und filtriert, füllt das Filtrat mit 94%igem Alkohol auf 200 ccm auf, und fügt noch 4 ccm Salzsäure hinzu. Die Lösung ist sofort gebrauchsfertig und hält sich auch gut, doch färben allzu alte Lösungen zu diffus.

Man kann das Pulver, sowie die Lösung auch von Grübler beziehen, doch stellt man sich dieselbe am besten selbst her.

Bei der Färbung verfährt man folgendermaßen:

1. Fixieren in irgend einer Fixierungsflüssigkeit, Gefrierschnitte oder Einbetten und Schneiden (am besten soll Härtung in Sublimat, Azeton, Alkohol sein, doch gibt auch solche in Formol vorzügliche Resultate).

2. Vorfärben der Schnitte mit Lithionkarmin 1—5 Minuten.

3. Differenzieren in Salzsäurealkohol.

4. Auswaschen in Wasser.

5. Färben in obigem Resorzin-Fuchsingemisch 20 Minuten bis 1 Stunde.

6. Kurzes Durchziehen durch Salzsäurealkohol.

7. Entwässern und Differenzieren in absolutem Alkohol bis die Schnitte wieder rot erscheinen.

8. Aufhellen in Xylol, Einbetten in Kanadabalsam.

Die Kerne erscheinen dann rot, elastische Fasern dunkelblauschwarz. Knorpel ist in der Regel mitgefärbt, manchmal auch Hornsubstanzen.

Ferner ist noch Folgendes zu bemerken:

Nr. 2 und 3 ist an sich zur Darstellung der elastischen Fasern überflüssig, man kann die Vorfärbung also, wenn grosse Eile nottut weglassen, in der Regel wird es gut sein, gleichzeitig die Kerne und zwar am besten mit Lithionkarmin vorzufärben. Nr. 3 kann man ebenso hierbei auslassen, da die folgende Resorzin-Fuchsinlösung Salzsäurealkohol enthält und die Lithionkarminvorfärbung hierbei sowieso differenziert wird. Jedoch scheinen mir die Färbungen prägnanter zu werden, wenn man auch schon vorher mit Salzsäurealkohol differenziert, also Nr. 3 einfügt. Ebenso ist Nr. 6 nicht unbedingt nötig, aber zur schnellen Entfernung des Resorzin-Fuchsingemisches aus den übrigen Geweben ausser den elastischen Fasern vorteilhaft. Bei den Celloidinschnitten darf Karbolxylol nicht verwendet werden, da es die Farbe (Fuchsin) ausziehen würde. Verwendet man alte, wie oben schon gesagt mehr diffus färbende Lösungen, so muss man etwas länger im Salzsäurealkohol (Nr. 6) differenzieren. Um die Methode mehr als mikrochemische Reaktion anzuwenden d. h. mit Bestimmtheit aussagen zu können, dass es sich in der Tat um elastisches Gewebe handelt und dass alles andere ausgeschlossen ist, soll man am besten sehr lange (bis zu 18 Stunden) im absoluten Alkohol (Nr. 7) differenzieren. (Fischer).

Da sich bei dieser Methode ausser höchstens Knorpel und eventl. Horn nichts als die elastischen Fasern färben und auch jene Substanzen in einer weit helleren Nüance und nicht mit den elastischen Fasern verwechselt werden können, kann man diese Methode fast als mikrochemische Reaktion bezeichnen. Durch ihre ausser-

ordentliche Leichtigkeit in der Anwendung, selbst für Anfänger, durch ihre Genauigkeit und Elektivität, sowie durch ihre gute Haltbarkeit ist diese Methode eine der brauchbarsten, welche wir überhaupt besitzen.

Michaelis und Fischer haben sich mit der Theorie der Färbung beschäftigt: Der Liquor ferri scheint als Oxydationsmittel zu wirken, das Resorzin kann auch durch andere Phenole ersetzt werden. Das Eisenchlorid und das Resorzin zusammen bilden eine Beize, welche die Verbindung zwischen dem elastischen Gewebe und dem Fuchsin vermittelt; auch wirkt das Fuchsin nicht als solches, sondern es bildet sich eine neue Kombination mit dem Fuchsin bei der Herstellung der Farblösung, welche besondere Affinität zu dem elastischen Gewebe besitzt. Statt des Fuchsins kann man auch andere basische Farbstoffe zur Darstellung der Lösung und Färbung verwenden, doch gibt eben Fuchsin das beste Resultat, nächst ihm das Safranin und Vesuvin.

Fischer hat vorgeschlagen, die nach dem Weigertschen Rezept hergestellten Lösungen so zu benennen, dass man die Silbe „el" in die Bezeichnung des Farbstoffes einschiebt. Er nennt also die Weigertsche Lösung „Fuchselin", die mit Safranin statt mit Fuchsin hergestellte Lösung „Safranelin", spricht von „Vesuvelin" etc. Will man das Safranelin anwenden, so färbt man die Kerne mit Hämatoxylin vor oder besser nach. Die Kerne sind dann blau, die elastischen Fasern rot dargestellt.

Von den Modifikationen der Weigertschen Färbemethode sei diejenige von Hart erwähnt.

Man färbt hierbei die Schnitte in 100 ccm des gewöhnlichen Salzsäurealkohols, dem man 5 ccm der Weigertschen Fuchsin-Resorzinlösung zugesetzt hat. Die Schnitte kommen nach Vorfärbung mit Lithionkarmin direkt in diese Lösung auf 12—24 Stunden, werden dann in absolutem Alkohol entwässert. Xylol. Balsam.

Bei dieser Methode färben sich die elastischen Fasern ebenfalls vorzüglich, eine Differenzierung ist nicht nötig, und diese Methode hat den Vorzug, grosser Einfachheit in der Anwendung, allerdings den Nachteil längerer Dauer.

Von sonstigen Modifikationen sei erwähnt, dass Minervini die Schnitte nach der Färbung also nach der Nr. 5 in 0,5%ige Chromsäurelösung eine Stunde einlegt, dann mit Wasser auswäscht, mit Alkohol entwässert etc.

Die elastischen Fasern sollen sich von dem ganz ungefärbten Untergrund noch schärfer abheben.

Mayer empfiehlt, um die Mitfärbung von Knorpel und eventl. Schleim zu verhindern, der Weigertschen fertigen Lösung noch etwas Ferrichloridlösung zuzusetzen.

Pranter hat ein Resorzin-Fuchsinpulver dargestellt (zu beziehen von Grübler), welches in 70%igem Alkohol unter Zusatz von Salpetersäure zu lösen ist, und ebenso wie die Weigertsche Lösung verwandt wird. Doch stellt diese Modifikation keine Verbesserung der ursprünglichen Methode dar. Auch die Kresofuchsin-Methode, Röthigs bietet offenbar keine Vorzüge vor der Weigertschen Methode.

Es sei noch erwähnt, dass man mit der Weigertschen Methode auch eine Kernfärbung mit Eisenhämatoxylin und Protoplasmafärbung nach der van Gieson-Methode kombinieren kann, doch gibt dies, wenn nicht sehr vorsichtig vorgegangen wird, leicht sehr schmutzig erscheinende Präparate. Auch die von Hornowski angegebene Kombination ist nicht zu empfehlen.

Für besondere Fälle kann man vorteilhaft die Weigertsche Elastikafärbung mit Färbung anderer Bestandteile kombinieren. Hier kommen in Betracht zunächst die Darstellungsmethoden für:

a) Elastische Fasern und Tuberkelbazillen. Es sind hier verschiedene Kombinationen möglich. Z. B. Färben der Tuberkelbazillen mit Karbolfuchsin, der Kerne mit Lithionkarmin, der elastischen Fasern nach Weigert, doch heben sich hier die Tuberkelbazillen und die Kerne, da beide rot gefärbt sind, nicht immer gut ab. Oder man färbt die Kerne mit Hämatoxylin, die Bazillen mit Karbolfuchsin, die elastischen Fasern mit Vesuvelin (s. oben) — man kann hierbei die Hämatoxylinfärbung, was vorteilhafter ist, erst zum Schluss vornehmen —, oder man färbt die Kerne mit Methylenblau, die Tuberkelbazillen mit Karbolfuchsin, die elastischen Fasern nach Weigert.

Am empfehlenswertesten erscheint mir die folgende Methode:

1. Härten beliebig, Entwässern, Einbetten, Schneiden oder Gefriermikrotomschnitte.
2. Färben in Lithionkarmin 1—5 Minuten.
3. Differenzieren in Salzsäurealkohol ein bis mehrere Stunden.
4. Färben in Weigerts Resorzin-Fuchsingemisch 1 Stunde.
5. Kurzes Abspülen in Salzsäurealkohol.
6. Kurzes Abspülen in 96%igem Alkohol.
7. Färben in Anilinwasser-Gentianaviolett (s. im Kapitel Bakteriologie) 6—12 Stunden in der Kälte.
8. Kurzes Differenzieren in Salzsäurealkohol.
9. Weiteres Differenzieren und Entwässern in 96%igem Alkohol.
10. Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Handelt es sich um Celloidinpräparate und färbt sich das Celloidin violett mit, so kann man den Schnitt vor dem Xylol in Alkohol-Äther entcelloidinieren.

Die Kerne sind rot, Bazillen leuchtend blau, elastische Fasern blauschwarz gefärbt.

Man kann auch (Schmorl) statt der Weigertschen Lösung (Fuchselin) Vesuvelin verwenden und die Färbung hierin erst nach der Bazillenfärbung mit Anilinwasser-Gentianaviolett vornehmen. In diesem Falle sind die elastischen Fasern nicht blauschwarz, sondern braun dargestellt.

b) Des weiteren kann man die Färbung auf elastische Fasern mit der Weigertschen Methode für Fibrin und grampositive Bakterien kombinieren (s. Kapitel XIV).

Die in Lithionkarmin vorgefärbten Schnitte färbt man dann mit der Weigertschen Elastikalösung, differenziert in absolutem Alkohol, spült in Wasser ab und schliesst die Weigertsche Fibrinmethode an.

Es erscheinen dann die elastischen Fasern blauschwarz, Fibrin und grampositive Bakterien leuchtend blau.

Oder man verwendet (Fischer) statt der Weigertschen Elastikalösung eine solche mit Safranin hergestellte (Safranelin) und verfährt ganz wie eben angegeben; dann sind naturgemäß Fibrin und Bakterien ebenfalls leuchtend blau, die elastischen Fasern aber rot dargestellt.

c) Des weiteren kann man die Färbung der elastischen Fasern mit der Fettfärbung verbinden.

Verfahren von B. Fischer. Man stellt sich folgende Lösung her:

Weigerts Resorzin Fuchsingemisch 74 ccm,
Wasser 26 ccm.

Dieser Flüssigkeit fügt man unter Kochen Sudan III oder Scharlach R im Überschuss hinzu und filtriert nach Abkühlung.

Man verfährt dann folgendermaßen:

1. Formolhärtung, Gefrierschnitte.
2. Färben in der eben angegebenen Lösung unter gutem Zudecken der Schale 1 Stunde.
3. Differenzieren in heissgesättigter Lösung von Scharlach R in 70% igem Alkohol (Schale gut zudecken) $^1/_4$ Stunde.
4. Kurzes Abspülen in 70%igem Alkohol.
5. Einbetten in Glyzerinleim.

Das Fett erscheint dann rot, die elastischen Fasern sind blauschwarz gefärbt. (Vergleiche auch die Methoden zur Fettfärbung Kap. XII.)

Ich empfehle folgende Methode, welche sicherere und bessere Resultate gibt:

1. Formolhärtung, Gefrierschnitte.
2. Färbung in Weigerts elastischer Färbungsflüssigkeit (am besten mit 70%igem statt 96%igem Alkohol, sonst ganz nach dem Weigertschen Rezept hergestellt) 1 Stunde.
3. Durchziehen durch Salzsäurealkohol.
4. Abspülen in 70%igem Alkohol.
5. Einlegen in die Aceton-Scharlach R-Lösung (s. Kap. XII) etwa Minuten.
6. Abspülen in 70%igem Alkohol.
7. Wässern.
8. Einbetten in Glyzerinleim.

Fett rot, elastische Fasern blauschwarz dargestellt.

d) Zur gleichzeitigen Darstellung der elastischen Fasern und der feinsten Bindegewebs-Zellausläufer hat Jores die Weigertsche Methode mit einem Teil der Pappenheimschen Methylgrün-Pyronin-Methode (s. später) folgendermaßen kombiniert:

1. Sublimatfixierung, steigender Alkohol, Paraffineinbettung, dünne Schnitte.
2. Färben im Weigertschen Fuchselin $^1/_2$—1 Stunde.
3. Abspülen in Wasser.
4. Einlegen in 96%igem Alkohol 10 Minuten bis mehrere Stunden.
5. Wässern.
6. Einlegen in 4%ige Resorzinlösung (wässerige) 10 Minuten.
7. Abspülen in Wasser.
8. Färben in 1,5%iger wässeriger Lösung von Pyronin (stets frisch bereiten) bei 30—40°.
9. Differenzieren in 1%iger wässeriger Kaliumaceticumlösung 1—3 Min. bis die Grundsubstanz fast farblos ist (Kontrolle unter dem Mikroskop).
10. Wässern.

11. Entwässern. Xylol. Balsam.

Kerne und Protoplasma intensiv rot, elastische Fasern blauschwarz dargestellt, bindegewebige Grundsubstanz ungefärbt.

2. Unna-Tänzersche Methode für elastische Fasern, modifiziert von Unna.

1. Härten in absolutem Alkohol oder Formol. Sublimat, Müllerscher Flüssigkeit; Gefrierschnitte oder Einbetten und Schneiden.

2. Färben in:

Orceïn D (Grübler) 1 gr,
Salzsäure 1 ccm,
Alkohol abs. 100 ccm,

etwa $^1/_2$ Stunde, bei etwa 37° und zwar so, dass nur wenig Farbflüssigkeit über dem Schnitt steht. Der Alkohol der Flüssigkeit verdunstet und eine eingedickte Masse bleibt übrig.

3. Auswaschen in 70%igem Alkohol.

4. Eventuell Differenzieren in einem $^1/_2$—1%igem Salzsäurealkohol wenige Sekunden.

5. Auswaschen in Wasser.

6. Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Die elastischen Fasern sind dunkelbraun gefärbt. Man kann eine Kernfärbung mit Lithionkarmin und Differenzierung in Salzsäurealkohol zwischen 1 und 2 einschieben.

Setzt man dem absoluten Alkohol (Nr. 6) einige Tropfen in absolutem Alkohol gelöster gesättigter Pikrinsäure zu (man muss dann nachher noch in reinem absolutem Alkohol nachwaschen), so ist das Protoplasma hellgelb gefärbt. Man kann so die Lithionkarminfärbung der Kerne mit Gelbfärbung des Protoplasmas und Dunkelbraunfärbung der elastischen Fasern kombinieren.

Eine Modifikation von Pranter löst das Pulver, ähnlich wie bei seiner Modifikation der Weigertschen Färbung (s. oben) in 70%igem Alkohol und Salpetersäure, doch scheinen auch hier besondere Vorzüge vor der Originalmethode Unnas kaum zu bestehen.

2a. Die Fränkelsche Modifikation soll gute Resultate geben.

1. Härten beliebig, Gefrierschnitte oder Einbetten und Schneiden.
2. Vorfärben mit Lithionkarmin 1—5 Minuten.
3. Kurzes Differenzieren in Salzsäurealkohol etwa 1 Stunde.
4. Abspülen in Wasser.
5. Färben in folgender Lösung:

Orceïn Grübler 0,5 g,
96%iger Alkohol 40,0 ccm,
Aqua dest. 20 ccm,
Salpetersäure 2,0 ccm.

Von dieser Lösung soll so viel einer 3%igen alkoholischen Salpetersäurelösung zugesetzt werden, bis eine dunkelbraune Farbe resultiert, Färben hierin 24 Stunden.

6. Differenzieren in 80%igem Alkohol, (evtl. in diesen kurze Differenzierung in dünnem Salpetersäurealkohol einschieben).

7. Nachfärben der Schnitte in:

Indigokarmin 0,5 gr,
konzentrierte wässerige Lösung von Pikrinsäure 200,0 ccm,
etwa 10 Minuten.

8. Kurzes Abspülen in:

Eisessig 3,5 ccm,
Aqua dest. 100 ccm.

9. Abspülen in: 96%igem Alkohol und Entwässern in absolutem Alkohol.

10. Xylol oder Bergamottöl, Balsam.

Die Kerne erscheinen dann rot gefärbt (Karmin), die elastischen Fasern schwarzbraun, kollagenes Bindegewebe grün, Muskulatur gelb.

3. Zur Färbung der elastischen Fasern und gleichzeitig zur Färbung der an den Gefässen vorkommenden, sonst nicht darstellbaren, nach ihrem Entdecker Dürck benannten Fasern, welche dieser als Telegraphendraht ähnliche bezeichnet, dient die Markscheidenmethode Weigerts mit Eisenhämatoxylin (s. unter Nervensystem).

Man kann diese Methode in folgender Weise vornehmen (nach Barach):

1. Härten in Orthschem Gemisch 24 Stunden bei Brütofentemperatur. (Man kann auch andere Härtungsflüssigkeiten anwenden.)

2. Beizen in der Weigertschen Kupferbeize (s. unter Markscheidenmethode).

3. Abspülen in Wasser, Härten in steigendem Alkohol, Einbetten, Schneiden.

4. Färben der Schnitte im Weigertschen Eisenhämatoxylin (s. unter Markscheidenmethode) d. h. im gewöhnlichen auf Seite 104 angegebenen Weigertschen Eisenhämatoxylin ohne Zusatz von Salzsäure bis zu 24 Stunden.

5. Abspülen in Wasser.

6. Differenzieren in der Weigertschen Boraxferricyankalium-Differenzierungsflüssigkeit (s. unter Markscheiden) bis die Differenzierung genügend fortgeschritten ist (Kontrolle unter dem Mikroskop).

7. Gründliches Wässern.

8. Entwässern in Alkohol. Xylol. Balsam.

Elastische und Dürcksche Fasern sind blauschwarz, desgl. Kerne gefärbt; event. vorhandenes Fibrin ist ungefärbt, aber deutlich sichtbar, event. auch hellblau gefärbt.

Man kann die Methode auch nach Härtung in Formol an Gefrierschnitten vornehmen (Beizen, Färben etc.). Sehr schöne Bilder erhält man auch bei Nachfärbung mit van Gieson-Lösung. Dann heben sich die blauschwarzen elastischen Fasern schön vom roten Bindegewebe ab.

4. Das von Unna sogenannte Elacin (basophil reagierendes Elastin) wird von ihm nach folgender Methode dargestellt:

1. Härten am besten in absolutem Alkohol. Einbetten. Schneiden.

2. Färben in polychromem Methylenblau (s. Seite 124) 10 Minuten.

3. Wässern.

4. Übertragen in etwa 33%ige, d. h. gesättigte, wässerige Lösung von Tannin 15—20 Minuten.

5. Gründliches Wässern.
6. Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Das Elacin ist blau dargestellt.

Man kann diese Methode Unnas auch mit der Färbung auf elastische Fasern kombinieren, z. B. folgendermaßen:

1. Härten in absolutem Alkohol, Einbetten, Schneiden.
2. Färben der elastischen Fasern mit der Unnaschen Orceinlösung in der oben angegebenen Weise bei 37°.
3. Auswaschen in 70%igem Alkohol.
4. Wässern.
5. Nachfärben in polychromem Methylenblau etwa 10 Minuten.
6. Wässern.
7. Übertragen in die gesättigte wässerige Tanninlösung (s. oben) 10—15 Minuten.
8. Gründliches Wässern.
9. Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Das Elacin ist dann blau, elastisches Gewebe dunkelbraun gefärbt.

Eine andere Methode Unnas benutzt Wasserblau und Safranin.

Die Methoden zur Darstellung der Neuroglia sollen hier nicht angegeben werden, sondern im Kapitel Nervensystem.

Zur Darstellung des Fettgewebes dienen die im nächsten Kapitel zu besprechenden Fettmethoden, zur Darstellung des Schleimgewebes die dort zu behandelnden Schleimfärbungen.

Kapitel XII.

Methoden zur Darstellung der bei den regressiven Prozessen sich abspielenden Veränderungen.

A. Atrophie.

In erster Linie kommt es hierbei darauf an, frische Präparate (Zupfpräparate event. mit Hilfe von Mazerierungsflüssigkeiten), Doppelmesser- oder etwa Gefriermikrotomschnitte und dergl. herzustellen (siehe Kapitel II).

Am frischen Präparat im ungefärbten Zustand treten die Grössenverhältnisse am besten und unabhängig von etwa künstlich gesetzten Schrumpfungen oder dergleichen hervor, und die allgemeine Verkleinerung der Zellen spielt ja bei der Atrophie eine Hauptrolle.

Des weiteren werden zu färbende Schnitte anzufertigen sein; im allgemeinen genügen hierzu schon Gefriermikrotomschnitte nach Härtung in Formol, event. ist Einbetten nötig. Als allgemeine Übersichtsfärbung ist die Eisenhämatoxylin-(Weigert) Kernfärbung mit van Gieson-Nachfärbung am meisten zu empfehlen. Die Degenerationsformen des Kernes treten durch die Veränderung der Struktur desselben, sowie durch die zumeist weit dunklere Färbung solcher verklumpter Kerne deutlich hervor. Auch die Abnahme an Zahl der Zellen zeigt sich bei den Übersichtsschnitten meist deutlich, und da ja bei älteren Atrophien zumeist das Bindegewebe vikariierend gewuchert ist, wie z. B. bei der Altersatrophie, so fällt nunmehr das vermehrte Bindegewebe hauptsächlich in das Auge, und auch dies wird ja mit der van Gieson-Methode besonders gut dargestellt. Event. kann man die besprochenen spezifischen Bindegewebsfärbungen anwenden.

Die Kernvermehrung, welche als sogenannte atrophische am bekanntesten in den Muskelfasern ist, aber auch als Antwort auf Schädigungen an anderen Organen, so der Niere, vorkommt, tritt ebenfalls bei den Kern-Plasmafärbungen hervor.

Bei Vorhandensein des „Abnutzungspigments", der sogenannten „braunen Atrophie" z. B. in Leber und Herz, sowie den Ganglienzellen färbt man am besten mit Lithionkarmin. Von der roten Farbe hebt

sich das braune Pigment am besten ab. Will man mit Hämatoxylin färben, so lässt man am besten jede Protoplasmanachfärbung weg, da eine solche den Farbenton des Pigmentes weniger scharf hervortreten lassen würde. Um die Eigenfarbe des Pigmentes festzustellen, vergleicht man am besten auch mit einem ungefärbten Schnitt. Da diese Pigmente sogenannte Lipochrome sind, d. h. ausser dem Farbstoff Fett oder fettähnliche Körper enthalten, so kann man die Pigmente sehr schön nach den noch zu besprechenden Methoden der Fettfärbung darstellen, doch sei hierzu bemerkt, dass sich diese Pigmente nicht so schön rot, wie das eigentliche Fett färben; einmal infolge ihrer braunen Eigenfarbe, sodann weil es sich hier offenbar auch um sogenannte Lipoide (siehe später) handelt. Diese Fettpigmente färben sich auch nach der Ciaccioschen Methode (s. unten). Im übrigen wechselt die Fettfärbbarkeit und wie es scheint die Quantität der Fett-und der Pigmentkomponente in den einzelnen Fällen sehr.

Da die Atrophie sehr häufig von Veränderungen der Gefässe abhängig ist, beachte man dieselben besonders und färbe sie ausser mit Kern-Plasmafärbungen mit der Weigertschen Methode für elastische Fasern und event. auch auf Fett. Bei sehr hochgradigen Inanitionszuständen, welche ja auch allgemeine Atrophie bewirken, sind in der Regel die Sternzellen der Leber verfettet; auch hierbei werden Fettfärbungen Aufklärung geben.

Bei den auf Veränderungen der Nerven beruhenden atrophischen Zuständen muss man event. die spezifischen Nervenmethoden anwenden.

Für die Atrophie der Ganglienzellen sind die Veränderungen und der eventuelle Schwund der Nisslkörperchen charakteristisch, es müssen also die speziellen Methoden für diese angewandt werden.

B. Trübe Schwellung.

Die hierbei auftretenden Granula werden am frischen Präparat — oft genügt Abstreifen der Zellen mit dem Messer — in Kochsalzlösung untersucht. Sie hellen sich auf Zusatz von Essigsäure unter Hervortreten des Kernes im Gegensatz zu Fettropfen auf, d. h. verschwinden. Auch Kalilauge löst die Granula, aber ebenso den Kern auf. Fettlösungsmittel, wie Äther, absoluter Alkohol lösen die Körnchen der trüben Schwellung nicht auf. Fettfärbungen versagen naturgemäß.

Zur Härtung verwendet man am besten das Orthsche Gemisch und färbt mittels Eisenhämatoxylin (Heidenhain oder Benda) am besten unter Nachfärbung mit Säurefuchsin (Landsteiner). Sehr vorteilhaft wird auch die Altmannsche Methode für Granula, die sich bei der trüben Schwellung verändern, angewandt. Auch mittels der Schüninoffschen Färbung für Fibrin (s. dort) sollen sich die Körn-

chen der trüben Schwellung darstellen lassen. Das sogenannte tropfige Hyalin der Nieren tritt bei van Gieson-Färbung durch seine orangerote Farbe deutlich hervor.

C. Fett-Infiltration und -Degeneration, sowie verwandte Prozesse.

Auch hierbei soll zunächst am frischen Präparat untersucht werden; Zupfpräparate event. Abstrichpräparate, Gefriermikrotomschnitte u. dergl.

Die Fettkörnchen lösen sich, wie bereits besprochen, im Gegensatz zu denen der trüben Schwellung nicht in Essigsäure und Kalilauge (Natronlauge), dagegen in absolutem Alkohol, Äther, Chloroform, Xylol etc. Das Fett zeichnet sich durch sein starkes Lichtbrechungsvermögen (Abblenden) im ungefärbten Präparat aus.

Es färbt sich das Fett mit Osmiumsäure schwarz, mit Sudan III und Scharlach R rot (s. unten).

Als Härtungsmittel ist Formol zu bevorzugen; es sind Gefriermikrotomschnitte herzustellen. Alkohol, Aceton etc. löst das Fett auf, und es sind infolgedessen Einbettungen in Celloidin und Paraffin nicht möglich (ausser bei der Osmiumsäuremethode, s. unten), in so behandelten Präparaten kann man, da das Fett gelöst ist, nur grössere Fettropfen als Vakuolen, also gewissermaßen im Negativ, erkennen.

Es ist zu beachten, dass nur in manchen Organen, wie im Herzen, Fett schon an sich einen pathologischen Zustand darstellt, während in sehr zahlreichen Organen, so fast in sämtlichen arbeitenden Drüsen, wie in Leber, Nebennieren, Speicheldrüsen, Schweissdrüsen, Haut, Thymus, Hoden etc. Fett einen physiologischen Bestandteil darstellt, welcher zum Stoffwechsel gehört, und darum zur Erkennung pathologischer Zustände die quantitative Menge des Fettes, sowie etwaige sonstige Veränderungen der Zellen und ihrer Kerne beachtet werden müssen.

Sowohl normal in den Organen, wie unter pathologischen Bedingungen gehören zu diesen sogenannten Fetten vielfach Stoffe, welche keine richtigen Fette, d. h. also Triglyceride der Fettsäuren sind, sondern verwandte Stoffe, sogenannte „Lipoide“ (eventl. „Myeline“), über deren färberische Darstellung unten genaueres gesagt werden soll.

Das Fettgewebe, welches bei der sogenannten Lipomatose und bei der Fettdurchwachsung des Herzmuskels vermehrt ist, wird auch am besten mittels der Färbung auf Fett dargestellt.

Über die Fettgewebsnekrose des Pankreas siehe bei diesem Organ.

Es sollen nunmehr die spezifischen Methoden zur Darstellung des Fettes folgen.

Diese kann man einteilen:

I. in die Färbung der Neutralfette mittels Anilinfarben insbesondere Azo-Farbstoffen),

II. mittels Osmiumsäure,

III. mittels der neueren Methoden von Smith und Boas.

I. Fettfärbung mit den Azo-Farbstoffen Sudan III, Scharlach R (Fettponceau) und dergl.

Sudan III wurde in der Farbentechnik zuerst von R. Nietzki (1880), in der histologischen Technik von Daddi (1896) verwandt. Michaelis führte später das Scharlach R. (Kalle-Biebrich) ein, welches infolge seiner höheren Komposition (2 Methylgruppen mehr als das Sudan) das Fett noch dunkler rot färbt. Bei allen folgenden Methoden kann man sowohl Sudan III, wie Scharlach R (Fettponceau) anwenden; letzteres ziehe ich vor.

Während zuerst die Farbstoffe in 96%igem Alkohol gelöst wurden, dieser aber auch einen Teil des Fettes auflöste, trat später 70%iger Alkohol an die Stelle. Man fügt diesem den Fettfarbstoff im Überschuss zu und filtriert. Da nun aber hierin nur wenig Farbstoff gelöst wird und somit die Färbung eine langwierigere und nicht sehr starke ist, kann man höher konzentrierte Lösungen von Sudan III oder Scharlach R auf folgende Weise herstellen:

1. Man löst den Farbstoff in kochendem Alkohol, lässt die Lösung im Brutofen bei 37° stehen und nimmt auch die Färbung bei dieser Temperatur vor. (B. Fischer.)

2. Man benutzt folgende Lösung:

Absoluter Alkohol 70 ccm.
Wasser 10 ccm.
10%ige Natronlauge 20 ccm,
hierin gesättigte Lösung von Scharlach R, am besten in der Wärme (G. Herxheimer).

Es bildet sich das alkalische Salz des Fettfarbstoffes, welches weit alkohollöslicher ist als der Farbstoff selbst.

3. 70%iger Alkohol 50 ccm,
reines Azeton 50 ccm,
gesättigte Lösung von Scharlach R, hierin (G. Herxheimer).

Alle diese Lösungen müssen vor dem Gebrauch gut filtriert oder dekantiert werden, und die Gefässe müssen gut verschlossen bezw. zugedeckt sein, da sonst besonders bei den letzten hochkonzentrierten Lösungen Alkohol oder Azeton verdunstet und Niederschläge eintreten.

Bei der gewöhnlichen Lösung des Farbstoffes in 70%igem Alkohol muss man 20—30 Minuten färben, bei der Fischerschen Lösung 10—20 Minuten. Bei den beiden letztgenannten Lösungen genügen 2—3 Minuten.

Man kann nur Gefriermikrotomschnitte am besten nach Härtung in Formol (oder Orthschem Gemisch, oder konzentrierter wässeriger

Pikrinsäure bes. bei Zusatz von 5% käuflichen [40%igen] Formols) verwenden. Die Schnitte müssen aus 70%igem Alkohol in die Farblösung gelangen und aus dieser wieder durch 70%igen Alkohol durchgezogen werden; besonders bei den konzentrierten Lösungen um etwas differenziert zu werden und Niederschläge zu vermeiden: sodann gelangen sie in Wasser.

Eine Kernfärbung nimmt man am besten als Nachfärbung mit Hämatoxylin vor. Bei den alkalischen Fettfarbstofflösungen muss man sogar die Hämatoxylinfärbung nachfolgen lassen, da eine Vorfärbung mit Hämatoxylin in der alkalischen Lösung wieder verloren ginge. Man nimmt die Hämatoxylinnachfärbung am besten nur kurz vor, sodass nur die Kerne leicht gefärbt sind. Sollte etwa Überfärbung eingetreten sein, so kann man ganz kurz mit Salzsäurealkohol differenzieren; die Fettfärbung, wenigstens mit den konzentrierten Lösungen, verträgt dies schon.

Um den Kontrast des roten Fettes und der blauen Kernfärbung noch zu steigern, taucht man die Schnitte nach der Hämatoxylinfärbung aus Wasser am besten kurz in ganz dünne Ammoniak- oder Lithionkarbonicumlösung ein, worin die Schnitte sich schnell schön blau färben und bringt sie zurück in Wasser. Da man Alkohol wie Xylol vermeiden muss, kann man nicht in Kanadabalsam einbetten, sondern untersucht in Glyzerin oder in der auf Seite 84 genannten Glyzerin-Gelatine, welche Dauerpräparate gestattet.

Von den obengenannten Fettfarbstofflösungen ziehe ich die azetonhaltige vor.

Es ist, wenn wenig Fett in den Präparaten vorhanden ist, vorteilhafter, einige Schnitte nur mit dem Fettfarbstoff ohne Kerngegenfärbung zu färben, da feinste Spuren von Fett dann zuweilen leichter sichtbar sind.

Die ganze Methode gestaltet sich folgendermaßen:

1. Härten in Formol 24 Stunden, Schneiden auf dem Gefriermikrotom.

2. Auffangen der Schnitte in 70%igem Alkohol.

3. Färben der Schnitte in der Scharlach R- (oder Sudan III-) Lösung, am besten in der azetonhaltigen 2—3 Minuten (in den anderen Lösungen wie oben angegeben).

4. Kurzes Abwaschen in 50—70%igem Alkohol (bei den schwachen Lösungen eventl. auszulassen).

5. Auswaschen in Wasser.

6. Nachfärben in Hämatoxylin kurz (event. kurzes Differenzieren in Salzsäurealkohol, aber besser zu vermeiden).

7. Auswaschen in Wasser.

8. Eintauchen in Wasser, dem wenige Tropfen Ammoniak zugesetzt sind.

9. Gründliches Auswaschen in Wasser.

10. Aufziehen des Schnittes, Trocknen, Einlegen in Glyzerin oder Glyzerin-Gelatine.

Das Fett ist leuchtend rot dargestellt, auch die kleinsten Spuren desselben; Kerne sind blau. Die Markscheiden und die meisten fettähnlichen Körper (s. unten) mehr blassrot.

Zur Darstellung des Fettes in Sekreten und Exkreten zentrifugiert oder sedimentiert man dieselben mit der gesättigten Lösung von Scharlach R in 70%igem Alkohol (Rieder) oder mit dieser Scharlach R-Lösung 2 Teile, unter Zufügung von 10%igem Formol 1 Teil (Levinson). Bei Färbungen für Deckglaspräparate wendet man besser die azetonhaltige Lösung der Farbstoffe an, nicht die alkalische, welche nach Michaelis zuweilen, wohl infolge der Quellung, ein Ablösen der Massen herbeiführt.

Eine Blaufärbung des Fettes kann durch Indophenol (konzentrierte Lösung in 70%igem Alkohol) bewirkt werden. Färben etwa 20 Minuten, ganz so wie oben angegeben, nur muss man statt mit Hämatoxylin nachzufärben, dann, um eine gegensätzliche Färbung zu erzielen, die Kerne mit Lithionkarmin gegenfärben und zwar des Salzsäurealkohols wegen vorfärben.

Die oben erwähnten Anilinfarben sind Azokörper, und es ist interessant, dass die Fettfarbstoffe eine mehr indifferente Reaktion, wenn auch eine leicht saure, oder auch leicht alkalische darbieten.

Über die gleichzeitige Färbung von Fett und elastischen Fasern (s. Seite 142).

Über die Färbung des Amyloids mit den Fettfarbstoffen bezw. Kombinationen der Fettfärbung mit Amyloidfärbungen s. bei Amyloid.

II. Darstellung des Fettes mittels Osmiumsäure.

Sowohl die Osmiumsäure selbst, als alle ihre Lösungen können zu diesem Zwecke verwandt werden. Insbesondere gilt dies von der Flemmingschen und der Marchischen Lösung. Die Wirkung beruht auf einer Reduktion des Osmiumtetraoxyds (OsO_4) zu Osmiumoxyd (OsO_2), doch tritt die Reaktion rein nur bei Oleïn und Ölsäure auf, während Palmitin- und Stearinsäure sich allerdings bei der Nachbehandlung mit Alkohol meist auch „sekundär“ schwärzen. (Verwandlung der OsO_4 in $Os(OH)_4$).

Man kann dann in Paraffin (Xylol ist zu vermeiden, zu ersetzen durch Chloroform, Schwefelkohlenstoff etc.) oder in Celloidin einbetten und etwa die Methode mit Härtung in Flemmingscher Lösung und Färbung der Schnitte mittels Safranin ganz so vornehmen, wie oben zur Mitosendarstellung angegeben, nur dass man nicht in Salzsäurealkohol differenziert, da man allgemein die Kerne schön rot dargestellt

haben will, und des weiteren nach der Osmiumsäure tüchtig in fliessendem Wasser abwaschen muss, da sonst bei der Nachbehandlung mit Alkohol etwa zurückbleibende Osmiumsäure sich schwärzt und so Granula vortäuscht.

Aber diese Methoden haben trotz allem den Nachteil, dass sich ein Teil des Fettes in dem während der Einbettung benötigten Alkoholäther, Xylol oder dergl. doch wieder löst. (Hierauf beruhen die ringförmigen Fettablagerungen und dergl. nach Schmorl, Starke.)

Es empfiehlt sich infolgedessen mehr, an Gefriermikrotomschnitten die Färbung vorzunehmen und zwar nach Härtung der Gewebe in Formol. Man verfährt z. B. folgendermaßen:

1. Härten in Formol 24 Stunden.
2. Gefriermikrotomschnitte.
3. Einlegen der Schnitte in Flemmingsche Lösung oder Marchisches Gemisch, oder 1%ige wässerige Osmiumsäure auf 24 Stunden, oder Marchisches Gemisch im Brütofen etwa 3 Stunden), am besten im Dunkeln.
4. Kräftiges Auswaschen in öfters zu wechselndem bez. fliessendem Wasser 6—12 Stunden.
5. Übertragen in absoluten Alkohol mehrere Stunden (sekundäre Schwärzung des bis dahin noch nicht gefärbten Fettes, s. oben).
6. Auswaschen in Wasser.
7. Einbetten in Glyzerin-Gelatine.

Man kann auch in Kanadabalsam einbetten, wenn man nach Nr. 5, folgendermaßen verfährt:

6. Besonders schnelles Entwässern in absolutem Alkohol.
7. Aufhellen in ganz reinem Benzol (nicht Xylol).
8. Einschliessen in über einer Flamme geschmolzenen reinen Kanadabalsam (nicht Xylolbalsam).

Am relativ zuverlässigsten ist eine primäre Osmierung, sowie eine wiederholte zweite Osmierung nach dem Schneiden auf dem Gefriermikrotom. Man nimmt dies in folgender Methode (von Sata angegeben) vor:

1. Härtung kleiner Gewebsstücke in der Flemmingschen Mischung im Dunkeln 2–3 Tage.
2. Wässern in fliessendem Wasser 24 Stunden.
3. Schneiden auf dem Gefriermikrotom.
4. Zweite Osmierung in 1%iger wässeriger Osmiumsäurelösung 24 Stunden (oder im Brütofen 4 Stunden) im Dunkeln.
5. Gründliches Auswässern mehrere Stunden.
6. Gegenfärben der Kerne mit Safranin (nicht nötig).
7. Einlegen der Schnitte in absoluten Alkohol 6—12 Stunden.
8. Wässern.

9. Einbetten in Glyzerin-Gelatine:
oder:
8. Aufhellen in Benzol.
9. Einschliessen in reinen Kanadabalsam.

Die Osmiumsäurereaktion ist keineswegs zuverlässig. Auf der einen Seite färbt sie manches, was kein Fett ist, so Gerbsäure; auch Eleïdin und Paraeleïdin lässt sich (nach einer Unnaschen Methode) mit Osmiumsäure schwärzen, ohne dass es sich hier wahrscheinlich um fettige Substanzen handelte. Andererseits färbt sich, wie schon aus den obigen Darstellungen zu ersehen ist, nicht alles Fett mit der Osmiumsäure.

Die Darstellung des Fettes mittels der Azofarben ist, weil viel zuverlässiger und einfacher, bedeutend vorzuziehen.

IIIa. Lorrain Smithsche Methode mit Nilblausulfat.

Diese Methode hat den Vorzug, dass der Farbstoff in Wasser gelöst ist, sodass kein Fett gelöst werden kann, dass gleichzeitig das Fett und andere Gewebselemente und zwar in verschiedenen Farben dargestellt werden und dass man die Neutralfette durch die Färbung von anderen ähnlichen Substanzen bis zu einem gewissen Grad (s. unten) z. T. unterscheiden kann. Auf der andern Seite ist die Methode lange nicht so sicher und gibt lange nicht so präzise Bilder auch kleiner Fettmassen als die Sudan-(Scharlach R-)Färbung. Diese Färbung mit Nilblausulfat ist daher keineswegs zur allgemeinen Fettfärbung zu empfehlen. Das Verfahren ist folgendes:

1. Fixieren in Formol.
2. Gefriermikrotomschnitte.
3. Einlegen der Schnitte in konzentrierte wässerige Lösung des Nilblausulfats oder Neumethylenblaues 10 Minuten,
4. Abspülen in Wasser,
5. Einbetten in Glyzerin oder Glyzerin-Gelatine, oder besser Untersuchen und Einlegen in konzentrierte wässerige Lösung von Kalium aceticum und Umranden des Deckglases mit Kitt.

Zwischen Nr. 4 und Nr. 5 schaltet man am besten eine Differenzierung in 1%iger Essigsäure und gründliches Wässern ein. Viele Färbungen werden erst dann brauchbar.

Die Neutralfette sind rot, die Kerne dunkelblau, das Protoplasma hellblau gefärbt, ebenso färben sich Bakterien dunkelblau, während die fettähnlichen Körper (s. unten) zum Teil blau, zum Teil rot gefärbt sind. Oft stört aber eine schwer definierbare violette Mittelnüance.

b. Färbung mittels Chlorophyll nach Boas.

Diese Methode wurde ganz neuerdings von Boas empfohlen. Man verwendet eine konzentrierte Lösung von Chlorophyllum bisdepuratum in 80%igem Alkohol (zu beziehen von G. Hell und Co. in Troppau). Die Lösung hält sich gut und wird vor dem Gebrauch am besten filtriert. Zur Fettfärbung kann man diese Lösung etwa zur Hälfte mit 60%igem Alkohol verdünnen, ohne dass Farbstoff ausfällt (Benda). Man färbt Gefrierschnitte nach Formolhärtung ganz nach der Art wie man Sudan- und Scharlach R-Lösungen anwendet. Die Farbe haftet am Fett — das sich grün färbt — so fest, dass man in Alkohol oder salzsaurem Alkohol differenzieren kann.

Man kann kombinierte Färbungen vornehmen, indem man dieselben Schnitte mit Methylviolett auf Amyloid vorfärbt, oder eine Elasticafärbung mit Orceïn, sei es vorher, sei es nachher, vornimmt, oder auch mit einem Gemisch beider Lösungen simultan färbt.

Besondere Vorzüge scheint der neue Farbstoff vor dem Scharlach R kaum zu haben, es sei denn, dass sich die Bendasche Beobachtung bestätigt, dass er nur Degenerations- nicht Infiltrationsfett intensiv färbt, was aber nach meinen bisherigen Erfahrungen nicht der Fall ist.

Von allen Fettfärbungen also empfehle ich die einfachste mit Scharlach R-Lösung am meisten.

Methoden zur Darstellung der Lipoide und Myeline.

Ausser den Neutralfetten kommen ihnen verwandte Körper — »Lipoide« — in normalen wie pathologischen Zuständen im Gewebe vor und haben durch neuere Untersuchungen besondere Bedeutung erlangt.

Die wichtigsten Körper kann man einteilen in:

1. P. und N. freie Substanzen; so Cholesterin, Cholesterinfettsäureester, ferner Fettsäuren (Ölsäure) und Seifen (ölsaures Natrium etc.).

2. N. haltige aber P. freie Substanzen, sogenannte Cerebroside, vor allem das Phrenosin.

3. N. und P. haltige Körper, sogenannte Phosphatide, besonders ein Monamidokörper, das Kephalin, und ein Diamidokörper, das Sphingomyelin.

Des weiteren kommen Cholesteringemische in Betracht.

Das sogenannte »Protagon« besteht hauptsächlich aus Gemischen von Phosphatiden und Cerebrosiden (s. oben).

Das sogenannte »Lecithin« der Zellen ist wahrscheinlich nicht als reines Lecithin aufzufassen, doch liegen hier endgiltige Untersuchungen wegen der Schwierigkeit, reines Lecithin zu erhalten und damit zu vergleichen, noch nicht vor.

Da nun zur Unterscheidung dieser komplizierten Substanzen von den Neutralfetten und untereinander bestimmte neue Methoden verwandt werden, wollen wir diese zunächst und die Resultate unten zusammenstellen. Die Methoden sind folgende:

1. Die Untersuchung im polarisierten Licht zur Feststellung von Doppelbrechung.

Die Anwendung des Polarisationsmikroskops s. Seite 7.

Die doppelbrechenden Tropfen färben sich mit Sudan III oder Scharlach R, wenn auch nicht so stark wie die Neutralfette. Bei der Härtung gehen die Tropfen zum Teil ganz in Kristalle über, welche sich nicht färben lassen. Während die Tropfen nach der Härtung Doppelbrechung nicht mehr zeigen, ist dies bei den Kristallen noch der Fall. Bei der Osmiumsäureschwärzung muss man um alle Tropfen etc. darzustellen eine sekundäre Osmierung durch 24stündiges Liegenlassen in Alkohol vornehmen. Die Osmiumsäure zerstört die Doppelbrechung, welche auch nach Entfernung der Schwärzung durch Oxydation nicht wieder auftritt. Färbt man die doppelbrechenden Substanzen mit Osmiumsäure, so lösen sie sich nachher wieder zum Unterschied von Neutralfetten ganz in Xylol, Chloroform, Bergamotteöl.

2. Färbung nach Fischler, besonders für Fettsäuren.

Es ist dies eine Modifikation der Bendaschen Methode zur Darstellung der Fettgewebsnekrosen des Pankreas. Sie beruht darauf, dass die Kristalle der freien Fettsäuren (sowie des fettsauren Kalkes) mit Kupfer gebeizt, mit Hämatoxylinfärbung in einen schwarzen Lack übergeführt werden. Man verfährt nach Fischler folgendermaßen:

1. Fixierung in Formol.
2. Gefrierschnitte.
3. Beizen der Schnitte in konzentrierter Lösung von Cuprum aceticum in Wasser 2—24 Stunden (am sichersten in der Kälte).
4. Waschen in destilliertem Wasser.
5. Färben in einer Mischung folgender zwei Lösungen:
   1. Hämatoxylin 1,0 gr,
      Alkohol abs. 10 ccm.
   2. Konzentrierte Lithiumkarbonikumlösung 1,0 ccm,
      Aqua dest. 9,0 ccm.

Beide Lösungen mischen und einige Tage stehen lassen.

Hierin färben mindestens 20 Minuten.

6. Differenzieren in stark verdünntem Weigertschen Differenzierungsgemisch (Boraxferricyankalium-Gemisch s. unter Markscheiden). Solange differenzieren bis die roten Blutkörperchen entfärbt sind.
7. Gründliches Auswaschen in destilliertem Wasser.
8. Alkohol abs. Xylol. Balsam.

Die Fettsäuren sind dann tiefblauschwarz gefärbt, desgleichen Eisen und Kalk, welche man aber durch eigene Reaktionen leicht von der Fettsäure trennen kann. Auch manche Zellgranula färben sich mit (eosinophile und Mastzellen, welche aber zu Verwechslungen keine Gelegenheit geben können). Will man gleichzeitig die Neutralfette mit Scharlach R färben, so fügt man statt Nr. 8 folgendes ein:

8. Färben mit Scharlach R einige Minuten.
9. Kurzes Durchziehen durch 70%igen Alkohol.
10. Wässern.
11. Einschliessen in Glyzerin-Gelatine.

Da fettsaures Natrium und Kalium (Seifen) durch Formol gelöst werden, muss man sie in unlösliche Kalksalze überführen, was durch Zusatz von Calcium salycilicum zu der 10%igen Formollösung, welche zur Fixierung dient, geschieht. Es entsteht so das unlösliche fettsaure Calcium. Durch Vergleich der in reinem Formol gehärteten Stücke, wobei sich Fettsäuren fixieren lassen, Seifen lösen und der in Formol mit dem Zusatz von Calcium salycilicum gehärteten Stücke, wobei beide fixiert werden (bei Nachbehandlung mit der oben angegebenen Methode), lässt sich abschätzen ob, und wieviel Seifen neben den Fettsäuren vorhanden sind.

Fettsaurer Kalk löst sich nicht wie die Fettsäuren in Äther-Alkohol, wohl aber in mit Salzsäure angesäuertem solchem, und lässt sich auf diese Weise, da er sich in Äther-Alkohol nicht löst, von den Fettsäuren, andererseits da er sich in einfacher Salzsäure nicht löst, vom Kalk unterscheiden.

3. Methode von Ciaccio.

1. Möglichst kleine Stücke werden in folgender Flüssigkeit am besten 2 Tage fixiert oder nach Formolfixation 2 Tage nachbehandelt:
   5%ige wässerige Lösung von Kalium bichromicum 80 Teile,
   gewöhnliches 40%iges Formol 20 Teile,
   Essigsäure 10—15 Tropfen.
(Essigsäure besser als Ameisensäure).

2. Einlegen der Stücke 5—8 Tage in 3%ige wässerige Lösung von Kalium bichromicum.
3. Waschen in fliessendem Wasser 24 Stunden.

4. Entwässern in absolutem Alkohol, Xylol. Paraffineinbettung. Schneiden, Aufkleben der Schnitte, Entparaffinieren in Xylol, Einlegen in Alkohol.

5. Färben in gesättigter Lösung von Sudan in 70%igem Alkohol, am besten im Brütofen bei 37°, ½—1 Stunde; oder in einer Lösung von Sudan III in Alkohol + Azeton (Ciaccio löst Sudan III bei etwa 55° in:

85%igem Alkohol 95 ccm,
Azeton 5 ccm
und filtriert nach dem Erkalten).

6. Einlegen der Schnitte in etwa 50—70%igen Alkohol wenige Sekunden.

7. Waschen.

8. Färben der Kerne in Heidenhainschen oder Böhmerschen Hämatoxylin bzw. Hämateïn.

9. Abspülen in Wasser.

10. Einschliessen in Apathyschen Gummisyrup, am besten nach Kasarinoff folgendermaßen modifiziert:

Gummi arabicum 50,0 ccm,
Rohrzucker 20 gr,
Wasser 50,0 ccm,
Thymol 0,05 gr,

im Brutschrank bei 55° filtrieren.

Bei diesem Verfahren werden die von Ciaccio Lecithin genannten Tröpfchen und Körnchen orange-gelbrot gefärbt, Markscheiden leuchtend rot.

Statt mit Sudan kann man auch mit Nilblausulfat nachfärben, wobei die Lipoide violett, bezw. blauviolett gefärbt werden.

Fixiert man in Formol, so setzt man diesem am besten ein Alkali zu, z. B. Karlsbader Salz 5,0 gr auf 100 ccm 10%iger Formollösung. Auch nach Kaiserling-Konservierung (selbst bei älteren Präparaten) gelingt die Methode noch.

Verwendet man diese Methode mit einer nach Nr. 2 einzuschiebenden Osmierung im Marchischen Gemisch, so werden gleichzeitig die Neutralfette schwarz dargestellt und heben sich somit von den Lipoiden gut ab.

4. Methode von Lorrain-Smith (Dietrich).

Diese Methode beruht auf der Tatsache, dass zwar auch Fette bei Beizung mit Kaliumbichromatlösungen und Nachbehandlung mit Hämatoxylin die schwarze Lackbildung eingehen, dass diese aber sehr viel schneller bei Cholesterin-Fettsäuremischungen etc. eintritt. Das Verfahren ist folgendes:

1. Formolhärtung.
2. Gefrierschnitte.
3. Einlegen in gesättigte wässerige Kaliumbichromatlösung 24—48 Stunden.
4. Kurzes Wässern.
5. Einlegen in essigsaures Hämatoxylin (Kultschitzky);
   Hämatoxylin 1 gr gelöst in etwas absolutem Alkohol,
   2%ige Essigsäure 100 ccm,

4—5 Stunden.

6. Differenzieren in dem Weigertschen Boraxferricyankaliumgemisch (s. Markscheiden).
7. Wässern.
8. Untersuchen in Lävulosesyrup.

Mittels aller dieser Methoden zusammen gelingt es die oben genannten fettähnlichen Stoffe bis zu einem gewissen Grad auf Grund mikrochemischer Reaktionen zu unterscheiden. Bei der nun folgenden Zusammenstellung wollen wir Kawamura folgen.

Cholesterinester sind charakterisiert durch die Doppelbrechung, die beim Erwärmen verloren geht. Sie färben sich gelblich mit Sudan, haben geringe Löslichkeit in den Fettlösungsmitteln und stehen sonst den Neutralfetten (Glyzerin-Estern) relativ nahe. Bei Härtung in Formol etc. wandeln sie sich in Kristalle um (s. oben), die beim Erwärmen wieder in doppeltlichtbrechende Tropfen übergeführt werden können.

Cholesterin-Fettsäuregemische unterscheiden sich von den Cholesterin-Fettsäureestern durch ihre Neigung, die bekannten bizarren Formen des Myelins (entsprechend der Markscheide) anzunehmen, was von dem gelösten Cholesterin abhängig ist; sie geben daher positive Resultate mit der Smithschen Methode (es gelingt also mit dieser die von Dietrich als Cholesterin-Fettsäure-Verbindungen und -Gemische zusammengefassten Substanzen weiter zu trennen und besser zu rangieren).

Die Cholsterin-Fettsäuregemische stehen im übrigen den Cholesterinestern nahe, geben also auch Doppelbrechung, aber nur bei relativ reichlichem Cholesteringehalt.

Cholesterin-Glyzerinestergemische. Keine Doppelbrechung, aber Neigung zur Myelinbildung; negative Resultate bei der Ciaccio-Methode, dagegen, wenn auch langsame, positive Resultate bei der Smith-Dietrichschen Färbung; sie stellen sich auch nach der Fischlerschen Methode positiv dar, mit Nilblau bläulich, mit Sudan und Scharlach gelblich rot.

Die Cerebroside (Phrenosin) verhalten sich wie die Sphingomyeline. Sie geben positive Färbungen mit Neutralrot und werden mit Nilblau bläulich gefärbt: sie haben Doppelbrechung und bilden Myelinfiguren, geben daher positive Smith-Dietrichsche Reaktion. Die doppelbrechenden Tropfen sind konzentrisch geschichtet, und die Doppelbrechung geht bei leichter Erwärmung nicht verloren.

Das Kephalin unterscheidet sich von den Sphingomyelinen hauptsächlich durch das Fehlen der Doppelbrechung.

Cholesterin-Kephalingemische verhalten sich wie das Kephalin, zeigen aber nunmehr Doppelbrechung, welche ebenfalls bei leichtem Erwärmen nicht verloren geht.

Fettsäuren geben positive Neutralrotfärbungen, und besonders charakteristisch (s. oben) werden sie nach der Fischlerschen Methode dargestellt: mit Sudan färben sie sich gelb, mit Nilblau tief blau. Sie färben sich auch nach der Ciaccioschen Methode. Bei der Smith-Dietrichschen allmählich: Myelinfiguren bilden sie nicht, Doppelbrechung zeigen sie ebenfalls nicht.

Seifen verhalten sich wie die Fettsäuren. Die Unterscheidung mittels der Fischlerschen Methode s. oben.

Gehen wir von den Reaktionen aus, so können wir Folgendes zusammenstellen:

Mit Sudan und Scharlach R färben sich die Neutralfette am dunkelsten, nächst dem folgen Cholesterinester und Cholesterin-Fettsäuregemische, während sich die übrigen Körper nur ganz hell oder gar nicht färben.

Nilblau färbt Neutralfett rot, Cholesterinester und Cholesterin-Fettsäuregemische rötlich, Sphingomyeline schwach bläulich, desgleichen Cerebroside und Kephalin; Fettsäuren und Seifen tief blau.

Doppelbrechung zeigen: Cholesterinester und Cholesterin-Fettsäuregemische. Sie geht beim Erwärmen verloren, kehrt beim Abkühlen wieder.

Die Sphingomyeline, Cerebroside und Kephalin-Cholesteringemische zeigen ebenfalls Doppelbrechung, welche beim leichten Erwärmen aber nicht verloren geht.

Fragliche Doppelbrechung weisen die Seifen auf, keine die Neutralfette und Fettsäuren.

Die Fischlersche Methode stellt die Fettsäuren und Seifen dar, (sowie ferner Cholesterinölsäure-Glyzerin-Estergemische).

Die Ciacciosche Methode stellt positiv die Kephaline, Kephalingemische, Fettsäuren und Seifen dar.

Bei der Smith-Dietrichschen Methode werden gefärbt: die Phosphatide (Sphingomyelin und Kephalin) Cholesterin-Fettsäuregemische, Cerebroside und, wenn auch zögernd, Fettsäuren und Seifen.

Neutralrot färbt Phosphatide, Cerebroside, Fettsäuren und Seifen in der Kälte oder beim Erwärmen positiv.

Myelinfiguren werden gebildet von Cholesterin-Fettsäuregemischen, Phosphatiden und Cerebrosiden.

—

Nach diesen verschiedenen Stoffen und ihrer Trennung durch die angeführten Reaktionen kann man die Verfettungen nach Aschoff in drei Gruppen einteilen:

1. Glyzerin-Ester- (Neutralfett) Verfettung.
2. Cholesterinester-Verfettung.
3. Lipoid-Verfettung, welch letztere die übrigen Stoffe zusammenfasst.

Es sei noch bemerkt, dass die Cholesterinester sich physiologisch in der Nebennierenrinde, in der Thymus (nur in den ersten Jahren) und in den Luteinzellen finden und unter pathologischen Bedingungen sehr zahlreich vorkommen, vor allem bei der Atherosklerose, bei durch Zirkulations- und Ernährungsstörungen bedingten Vitalitätsstörungen mancher Epithelien, so der Lungen und Nieren, bei chronischen Entzündungen und in Geschwulstzellen, ganz besonders in Nebennierentumoren, Grawitzschen Geschwülsten, Xanthomen und Pseudoxanthomen.

Lipoidverfettung findet sich mit der vorigen zusammen physiologisch in der Nebennierenrinde, Thymus und in den Luteinzellen, ferner in den Lipochromen (Abnutzungspigmenten), auch unter pathologischen Bedingungen finden sich diese Stoffe mit den Cholesterinestern und auch mit den Neutralfetten vergesellschaftet. So kann man sie am Rande von Infarkten, Verkäsungen etc. nachweisen.

Von diesen Stoffen ganz zu trennen sind dann die Myeline, welche sich unter nekrobiotischen Erscheinungen oder aber bei der postmortalen Autolyse der Organe bilden. Sie färben sich — wenigstens beim Erwärmen — mit Neutralrot und nach der Smith-Dietrichschen Methode positiv. Bei gleichzeitigem Kernschwund handelt es sich hierbei wahrscheinlich um Übertritt der Kernphosphatide und -cerebroside in das Protoplasma.

Sind bei diesen nekrobiotischen und autolytischen Vorgängen schon vorher Fette oder lipoide Substanzen vorhanden gewesen, so verwandeln sich diese Körper ebenfalls und zeigen Färbbarkeit mit Neutralrot.

Wegen aller Details dieser sehr komplizierten fettähnlichen Körper s. Kawamura »Die Cholesterinester-Verfettung« Jena 1911.

Hier angereiht werden soll noch das Cholesterin, welches sich in besonders grossen Mengen in Atheromen, Dermoiden etc. findet. Das Cholesterin bildet charakteristische kleinere und grössere rhombische Kristalle. Sie liegen oft in Massen zusammen und erscheinen wie abgebrochen. Cholesterin ist löslich in absolutem Alkohol, Xylol, Äther, Azeton, Eisessig, Chloroform, Benzol etc

Seine bekannteste Reaktion ist die mit Jod, bezw. Jod + Schwefelsäure. Setzt man Jod z. B Lugolsche Lösung zu, so erscheinen die Cholesterinkristalle braun, nach Zusatz von starker Schwefelsäure wird die Färbung blauviolett, dann blau, manchmal grün und endlich rot. Man kann diese Reaktionen durch Zusatz der Lösungen auf dem Objektträger unter dem Mikroskop direkt verfolgen.

Lässt man auf Cholesterinkristalle konzentrierte oder starke Lösungen von Schwefelsäure allein einwirken, besonders unter leichtem Erwärmen, so nehmen die Kristalle gelbe und dann braunrote Färbung an.

Sehr schonend ist das Verfahren von Golodetz, d. h. Zusatz von 5 Teilen Schwefelsäure und 2 Teilen 30 %igen Formols. Ähnlich reagieren manche Fette und Ölsäuren, die sich aber im Gegensatz zu Cholesterin mit Osmiumsäuredämpfen schwärzen.

D. Schleimige Degeneration.

Das Charakteristische ist der bekanntlich auch in zahlreichen normalen Zellen vorkommende Schleim. Die chemischen Reaktionen derselben sind wichtig, weil man schleimhaltige Zellen und Gewebe am besten zunächst frisch untersucht und diese Reaktionen am frischen Objekt vornimmt. Die Mucine sind in Wasser nicht löslich, sondern quellen in ihm, dagegen werden sie durch Essigsäure (und hierdurch unterscheiden sie sich von den sogenannten Pseudomucinen) und Alkohol fädig und flockig ausgefällt. Diese Fällung durch Alkohol wird bei Wasserzusatz wieder aufgehoben, was bei der Essigsäure nicht der Fall ist. Die Mucine sind leicht in alkalischen Flüssigkeiten löslich.

Man untersucht das frische Material auf dem Objektträger in Wasser — nicht in Kochsalzlösung — und lässt zum Fällen des Schleims einen Tropfen Essigsäure zwischen Objektträger und Deckgläschen, indem man Filtrierpapier an die andere Seite bringt, eintreten.

Es gibt eine Reihe verschiedener Schleimarten, welche als Mucine zusammengefasst werden, und hierauf beruhen offenbar die oft unter sich verschiedenen Reaktionen.

Man härtet am besten in Formol, oder Orthschem Gemisch, oder Alkohol. Für die gleich zu besprechende Hoyersche Färbung ist Sublimathärtung vorzuziehen.

Bei der van Gieson-Färbung wird der Schleim, da er sich mit Hämatoxylin überhaupt meist blau färbt, blau dargestellt. Der Schleim färbt sich bei der Weigertschen Fibrinmethode meist ebenfalls blau. Bei Sublimathärtung wird er im Ehrlich-Biondischen Dreifarbengemisch hellgrün dargestellt. Auch bei manchen anderen Methoden, wie bei derjenigen Weigerts auf elastische Fasern, färbt sich der Schleim oft unfreiwillig mit.

Der Schleim reagiert meist sauer und färbt sich mit basischen Anilinfarben, so Methylenblau, Bismarckbraun, Methylviolett, Safranin etc.

Die mehr spezifischen Methoden zur Erkennung des Schleims können wir in zwei Gruppen teilen.

Die erste beruht auf der Tatsache, dass der Schleim mit manchen Anilinfarben Metachromasie zeigt. Es ist dies vor allem mit dem Thionin und bei Anwendung des polychromen Methylenblaus der Fall.

Die zweite Gruppe umfasst mehr elektive Schleimfärbungen mittels besonderer von Mayer angegebener Hämatoxylin- und Karmingemische.

1. Hoyersche Thionin-Methode.

1. Härten in konzentrierter wässeriger Sublimatlösung 2—8 Stunden, weniger gut in Alkohol. Höchstens ganz kurzes Wässern. Nachhärten in öfters zu wechselndem 96%igem Alkohol (dem kein Jod wie sonst bei Sublimathärtung zuzusetzen ist), sodann in absolutem Alkohol. Einbetten in Paraffin — auch Celloidin angängig —. Schneiden. Aufkleben der Schnitte, Entparaffinieren derselben.

2. Einlegen der Schnitte in 5%ige wässerige Sublimatlösung 3 bis 5 Minuten.

3. Abspülen in Alkohol (oder Wasser).

4. Färben in dünner Thioninlösung (2 Tropfen heissgesättigte wässerige Thioninlösung auf je 5 ccm Wasser) 5—15 Minuten.

5. Waschen in 96%igem Alkohol.

6. Kurzes Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Die Kerne sind blau, der Schleim ist rot gefärbt, ebenso Mastzellengranula, Knorpel und Amyloid.

Die Farben des Schleims erscheinen noch leuchtender rot, wenn man nach der Färbung (4) den Schnitt nicht weiter zur Einbettung behandelt, sondern in Wasser oder Glyzerin aufzieht und untersucht.

Statt des Thionins kann man Toluidinblau benutzen, die Färbung hält dann besser.

Statt Xylol kann man zur Aufhellung das Minotsche Gemisch verwenden, welches aus 4 Teilen Thymianöl und 1 Teil Nelkenöl besteht.

2. Polychrome Methylenblau-Methode nach Unna.

1. Härten in Alkohol, Einbetten, Schneiden.
2. Färben 10 Minuten in polychromem Methylenblau (s. Seite 123).
3. Kurzes Auswaschen in leicht angesäuertem Wasser.
4. Einlegen der Schnitte $^1/_2$ Minute in 10%ige Kaliumbichromicumlösung.
5. Wässern, Aufziehen auf den Objektträger, mit Filtrierpapier trocknen.
6. Differenzieren in Anilinöl mit 1%igem Zusatz von Salzsäure $^1/_4$—$^1/_2$ Minute.
7. Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Die Kerne sind blau, Schleim, und desgleichen Knorpel und Amyloid, rot dargestellt.

3. Mayersche Mucihämateïnmethode.

Hämatoxylin färbt den Schleim in der Regel, aber nach Mayer nur mit Sicherheit, wenn etwas Alaun vorhanden ist, und wenn gar keine freie Säure stört, eine Kombination, die wegen der sauren Eigenschaften des Alauns schwer zu erreichen ist. Sehr sicher ist die Färbung in einer der beiden folgenden Lösungen:

Hämateïn 0,2 gr,
Chloraluminium 0,1 gr,
Glyzerin 40 ccm,
Wasser 60 ccm.

Das Hämateïn wird mit ein paar Tropfen Glyzerin verrieben, dann die anderen Substanzen zugesetzt, oder es wird die folgende Lösung verwendet:

Hämateïn 0,2 gr,
Chloraluminium 0,1 gr,
70%iger Alkohol 70 ccm,
Salpetersäure 1—2 Tropfen.

Die erste Lösung ist in der Regel die schneller und besser färbende. Die alkoholische ist vorzuziehen, wenn der Schleim stark quillt.

Man verfährt folgendermaßen:

1. Härten in absolutem Alkohol. Einbetten. Schneiden.
2. Färben in einer der beiden Lösungen 5—10 Minuten.
3. Auswaschen.
4. Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Der Schleim ist blau, andere Gewebsbestandteile sind nicht mitgefärbt.

Eine Vorfärbung der Kerne kann man mit Karmin vornehmen.

4. Mayersche Mucikarminmethode.

Man stellt folgende Lösung her:

Karmin 1 gr,
Chloraluminium (trockenes) 0,5 gr,
Wasser 2 ccm,

werden über einer Flamme 2 Minuten erhitzt, bis das Gemisch dunkel ist; dann setzt man sofort nach und nach 100 ccm 50 %igen Alkohol hinzu. Die Lösung wird nach 24 Stunden filtriert und hält sich gut.

Zum Gebrauch verdünnt man dieselbe mit Wasser auf 1 zu 10. Man färbt hierin 5—10 Minuten, spült in Wasser ab, entwässert in absolutem Alkohol etc.

Nur der Schleim soll dargestellt sein und zwar rot.

Eine Vorfärbung der Kerne kann man mit Hämatoxylin oder Hämateïn vornehmen.

Sollten sich die Kerne rot mitfärben, so enthält das Mucikarmin Säuren, die man durch einige Tropfen einer 1 %igen Lösung von Natriumbikarbonat neutralisieren muss.

Von diesen Methoden zur Darstellung des Schleimes sind die beiden letzteren die leichtest auszuführenden und elektivsten, setzen aber spezielle Farbgemische voraus. Die am meisten verwendete Methode, die sehr elegante Resultate gibt, ist wohl die erste mit Thionin; sie gelingt aber nur nach Sublimat- oder event. Alkoholhärtung.

E. Hyaline Degeneration.

Hier werden die verschiedensten Substanzen teils als Hyalin, teils als Colloid zusammengefasst. Das Colloid gehört zwar auch zu den hyalinen Substanzen, hat aber auch andererseits Verwandtschaft zum Schleim und besonders zu den Pseudomucinen. Das physiologische Analogon ist das Colloid der Schilddrüse. Es ist epithelialen Ursprungs, während das Hyalin sich insbesondere im degenerierten Bindegewebe, in Kapillaren etc. findet. Wasser, Alkohol, dünne Säuren und Alkali lösen es nicht. Das Hyalin steht dem Amyloid auf jeden Fall sehr nahe. In seinem physiologischen Verhalten gleicht es auch dem Amyloid, gibt aber nicht dessen Reaktionen. Die hyalinen Substanzen sind durch starkes Lichtbrechungsvermögen ausgezeichnet. Das strukturlose Aussehen der stark glänzenden Massen ist charakteristisch. Am ungefärbten Präparat ist dieser Glanz deutlich wahrzunehmen. Colloid wie Hyalin färben sich mit zahlreichen sauren Anilinfarben, wie Pikrinsäure, Eosin; Colloid auch mit manchen basi-

schen Anilinfarben. Bei der Weigertschen Fibrinmethode färben sich diese Massen blau, sind aber oft schwer von dem in weniger differenzierten Präparaten mitgefärbten Bindegewebe zu unterscheiden.

Zur Härtung ist Alkohol, Formol, Sublimat, Orthsches Gemisch etc. zu empfehlen, und die besten Färbungsresultate gibt die van Gieson-Methode. Hierbei färbt sich das Colloid, z. B. der Schilddrüse, in der Regel orange, manchmal aber mehr gelb oder rot, hyaline Substanzen in der Regel rot, zuweilen aber auch gelb. Verschiedene Hyaline färben sich also nach der van Gieson-Methode verschieden. Es ist dies z. B. ganz deutlich zu erkennen an den sogenannten hyalinen Malpighischen Körperchen der Niere älterer Leute; hier färbt sich der von der Kapsel stammende Teil der hyalinen Substanzen rot, der von den Glomeruli selbst stammende Teil gelb.

Die Unterscheidung, wie sie Ernst annahm, dass sich die vom Bindegewebe abstammenden Substanzen rot, die vom Epithel stammenden orange färben sollten, ist keine durchgehende.

Auch nach der Pianeseschen Methode (s. Seite 122) sollen sich die verschiedenen Hyaline verschieden darstellen lassen.

Mit der Russelschen Methode (s. Seite 122) färbt sich das Hyalin leuchtend rot.

Oft kann man das Hyalin von dem noch zu besprechenden Amyloid nur dadurch unterscheiden, dass man Amyloidfärbungen vornimmt, welche, wenn Hyalin vorliegt, negativ ausfallen müssen.

F. Amyloiddegeneration.

Das Amyloid, die Verbindung eines Eiweisskörpers mit Chondroitinschwefelsäure, ist das Charakteristikum dieser Degenerationsform. Dies Amyloid verhält sich dem besprochenen Hyalin in seinen chemischen Reaktionen ziemlich ähnlich, ist sehr widerstandsfähig gegen Säuren, Alkalien etc., andererseits hat es färberisch auch Beziehungen zum Schleim. Das Amyloid erscheint im ungefärbten Präparat wie die hyalinen Substanzen glänzend, stark lichtbrechend, sie unterscheiden sich aber durch die gleich zu besprechenden für Amyloid charakteristischen Reaktionen.

Zur Härtung dient am vorteilhaftesten Formol oder Alkohol; am besten werden Gefriermikrotomschnitte hergestellt; sie geben bessere Resultate als Schnitte vom eingebetteten Objekt. Längere Zeit in Alkohol aufgehobene Präparate färben sich schlecht oder gar nicht, auch Formol verringert, wenn in ihm die Stücke längere Zeit gelegen haben, die Reaktionsfähigkeit. Es empfiehlt sich also, Stücke 24 Stunden in Formol zu härten und dann Gefriermikrotomschnitte herzustellen. Als Übersichtsfärbung ist die van Giesonfärbung zu empfehlen, wobei das Amyloid gelbbraun erscheint und man seine Beziehungen zu den

Kernen und Geweben gut feststellen kann. Hierbei unterscheidet sich das Amyloid nur wenig von hyalinen Substanzen, und es müssen somit, wenn Verdacht auf Amyloid vorliegt, die besonderen Amyloidreaktionen angeschlossen werden. Sind dieselben auch etwas launisch, vor allem auch insofern, als nicht alles Amyloid stets alle Reaktionen gibt und versagen sie auch häufig, besonders bei dem Amyloid der sogenannten Amyloidtumoren, so gelingt die eine oder andere Methode wohl stets; es ist darum von Wichtigkeit mehrere anzuwenden.

Diese Methoden können wir in zwei Gruppen teilen:

a) Die erste ist ausgezeichnet durch die Affinität des Amyloids zum Jod,

b) die zweite beruht auf einem Farbumschlag des Amyloids mit zahlreichen Anilinfarben.

a) Jodmethoden.

1. Reine Jodreaktion.

Man verwendet hierzu ebenfalls am besten Gefriermikrotomschnitte und verfährt folgendermaßen:

1. Färben der Schnitte in am besten auf das vierfache verdünnter Lugolscher Lösung, welcher vorteilhaft 25% Glyzerin zugefügt wird, 5—10 Minuten.

2. Wässern.

3. Untersuchen auf dem Objektträger in Wasser oder Glyzerin, oder Einschliessen in Glyzerin-Gelatine.

Das Amyloid ist mahagonibraun, die anderen Gewebsteile sind gelb gefärbt. Die Färbung ist nicht gut haltbar.

Eine Kernfärbung kann man durch Vorfärbung mit Mayerschem alkoholischen Karmin (Lubarsch) vornehmen.

Sehr geeignet ist auch die Jodmethode, wie sie Langhans für das Glykogen angegeben hat.

1. Färben in Lugolscher Lösung 5—10 Minuten.

2. Entwässern in:

Absoluter Alkohol 4 Teile,
offizinelle Jodtinktur 1 Teil.

3. Aufhellen und Untersuchen in Origanumöl. Man umrandet das Deckgläschen mit Paraffin oder Lack.

Die Jodreaktion ist zur makroskopischen Erkennung des Amyloids in den Organen eine grosse Hilfe. Auch mikroskopisch ist sie relativ sicher, aber es ist durchaus fraglich, ob sie die gleich unter b) zu besprechenden Farbreaktionen an Sicherheit übertrifft. Auch andere Körper, so Glykogen, geben die Jodreaktion. (Letzteres löst sich aber leicht in Wasser.)

2. Jod-Schwefelsäurereaktion.

Die mit Jod vorgefärbten Schnitte nehmen in dünner Schwefelsäure eine blaue Farbe an.

Man verfährt am besten folgendermaßen:

1. Färben der Schnitte in sehr verdünnter Lugolscher Lösung bis sie eine ganz hellgelbe Farbe angenommen haben und das Amyloid sich erst ganz hellbraun gefärbt hat.

2. Aufziehen auf den Objektträger; Einschliessen unter dem Deckglas in Wasser.

3. Man bringt neben das Deckglas einen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure und zieht ihn mit Filtrierpapier durch; man kann dann den Farbumschlag unter dem Mikroskop beobachten.

Oder man behandelt die nach der obigen Jodmethode gefärbten Schnitte (Methode 1), indem man zwischen Nr. 2 und Nr. 3 die Schnitte auf 3—5 Minuten in 1%ige Schwefelsäure einlegt.

Statt des blauen Tones nimmt die Amyloidsubstanz manchmal ähnliche andere Farbtöne an; die Reaktion ist dann weniger scharf und sicher.

Dieselbe Reaktion mit Jod und Schwefelsäure geben:

1. Cholesterin (s. oben),

2. Pflanzliche Cellulose, während Stärkekörnchen durch Jod allein blau gefärbt werden,

3. Corpora amylacea (s. unten).

b) Metachromasie mit basischen Anilinfarben.

Diese, besonders die an erster Stelle zu erwähnende, zuerst von Jürgens beobachtete, zeichnet sich durch besondere Einfachheit und durch die eleganten Resultate aus, sodass wir sie in der Regel der Jodreaktion vorziehen. Ihr Nachteil besteht darin, dass diese Metachromasieen diagnostisch nicht ganz eindeutig sind, indem auch andere Substanzen wie Schleim, Mastzellengranula, und was zu Verwechslungen eher Veranlassung geben kann, zuweilen auch Colloid sich metachromatisch mitfärben.

Auch hier machen haltbare Dauerpräparate grosse Schwierigkeiten, sind aber doch weit eher als bei der Jodreaktion zu erzielen.

Auch diese Reaktionen werden am besten an Gefriermikrotomschnitten vorgenommen.

3. Färbung mit Methylviolett.

1. Färben in Methylviolettlösung, am besten in einer 1%igen wässerigen Lösung, mit dem gleichen Quantum Wasser verdünnt, $^1/_2$ bis mehrere Minuten.

2. Wässern.

3. Differenzieren in 2%iger Essigsäurelösung 1 bis mehrere Minuten.

4. Gründliches Wässern.

5. Aufziehen und Einbetten in Glyzerin, oder Glyzerin-Gelatine, oder in Lävulose.

In letzterer halten sich die Schnitte am besten. (Weigert.)

Statt der Essigsäure kann man auch verdünnte Salzsäure oder Salpetersäure verwenden.

Amyloid rot, sonstige Gewebe blauviolett gefärbt.

Will man die Kerne different färben, so verwendet man am besten die Methode von Green mit Hämalaun oder die

4. Birch-Hirschfeldsche Methode.

1. Färben des Schnittes mit einer 2 %igen alkoholischen Lösung von Bismarckbraun 5 Minuten.

2. Abspülen in absolutem Alkohol.

3. Waschen in destilliertem Wasser 10 Minuten oder länger.

4 Färben in einer $^1/_2$ %igen wässerigen Methylviolettlösung 5 Minuten.

5. Differenzieren in 1 %iger Essigsäure bis die Schnitte wieder braun gefärbt erscheinen.

6. Gründliches Wässern.

7. Einschliessen in Glyzerin, Glyzerin-Gelatine oder am besten in Lävulose.

Kerne sind braun, Protoplasma ist hellbraun, Amyloid leuchtend rot dargestellt.

Um mit Methylviolett gefärbte Paraffinschnitte in Kanadabalsam einschliessen zu können, kann man die gefärbten, nicht entparaffinierten und auf den Objektträger aufgezogenen Schnitte lufttrocken werden lassen, z. B. im Brütofen (Schmorl) mit Xylol behandeln und in Balsam einschliessen, doch tritt hierbei ziemlich starke Schrumpfung ein.

Empfehlenswert erscheint folgende von Edens angegebene Methode.

Er färbt nicht entparaffinierte Schnitte 24 Stunden in:

Konzentrierte alkoholische Lösung (96 %iger Alk.) von Methylviolett B 10 ccm,
Salzsäure (spezifisches Gewicht 1,124) 1 ccm,
destilliertes Wasser 300 ccm,

spült kurz in Wasser ab, lässt die Schnitte gerade lufttrocken werden, hellt sie mit Xylol auf, entparaffiniert dadurch und schliesst in Balsam ein.

Sehr haltbar ist auch diese Methode nicht. Nach Schmorl hängt das Verblassen der Metachromasie mit geringsten Wasserresten in den Präparaten zusammen.

Statt Methylviolett kann man bei allen diesen Färbungen auch Gentianaviolett benutzen, doch ist ersteres wegen seiner grösseren Reinheit vorzuziehen.

5. Methode mit polychromem Methylenblau (Schmorl).

Man härtet am besten in Formol, doch geht auch Sublimat- oder Alkohol-Härtung.

1. Färben in polychromem Methylenblau (s. Seite 123) 10—15 Minuten.
2. Wässern.
3. Differenzieren mit $^1/_2$ %iger Essigsäure 10—20 Sekunden.

4. Einlegen der Schnitte in:
gesättigte wässerige Alaunlösung 1 Teil,
Wasser 1 Teil,
2—5 Minuten.
5. Kurzes Entwässern in absolutem Alkohol etwa 1 Minute.
6. Aufhellen in Xylol, Einbetten in Balsam.

Amyloid rot, Kerne etc. blau. Die Farben halten sich relativ gut. (Aufbewahren im Dunkeln.)

6. Methylgrünfärbung.

Man verfährt ganz wie beim Methylviolett, nur dass man statt dessen Methylgrün verwendet.

Das Amyloid ist rotviolett, die Kerne sind grün gefärbt.

7. Jodgrünfärbung (Stilling).

1. Färben in $^1/_3$ %iger wässeriger Lösung von Jodgrün 24 Stunden.
2. Abspülen in destilliertem Wasser.
3. Einbetten in Glyzerin, Glyzerin-Gelatine oder Lävulose.

Wir finden es ratsamer in einer 1 oder 2 %igen Jodgrünlösung zu färben, dann zu wässern, in Essigsäure (oder Salzsäure, oder Salpetersäure) zu differenzieren, wieder gründlich zu wässern und einzubetten.

Amyloid ist rotviolett, Kerne und Gewebe sind grün dargestellt.

8. Thioninfärbung (Kantorowicz).

Hier härtet man am besten in Alkohol oder Sublimat.

1. Färben der Schnitte in gesättigter wässeriger Lösung von Thionin 3—5 Minuten.
2. Wässern.
3. Aufziehen auf den Objektträger, mit Filtrierpapier trocknen.
4. Aufhellen in Karbolxylol oder Anilinxylol (2 zu 1).
5. Xylol, mit Filtrierpapier trocknen, öfters zu wiederholen.
6. Einschliessen in Damarlack.

Amyloid ist hellblau, Schleim rot, Kerne sind violett gefärbt.

Ich finde, dass das Karbolxylol (Nr. 4) die Farbe meist auszieht.

Es sei noch bemerkt, dass auch andere Anilinfarben, so Kresylviolett und Toluidinblau zu Farbreaktionen verwendbare Metachromasieen aufweisen.

Die schon bei dem Fettponceau besprochenen Lösungen von Scharlach R (oder evtl. Sudan III), besonders die konzentrierten Lösungen färben das Amyloid bläulichrot. Diese Methode die ganz so, wie als Fettmethode angegeben, ausgeführt wird, hat den Vorzug, gleichzeitig das Fett und zwar viel dunkler rot wie das Amyloid zu färben, sodass es nicht mit diesem verwechselt werden kann, und zugleich die vorzügliche Hämatoxylinfärbung der Kerne zu erlauben. Die Methode hat aber den grossen Nachteil sehr unsicher und keineswegs spezifisch für Amyloid zu sein. Beruht sie doch nach Lubarsch auf geringen Fettbeimengungen zu letzterem. Andererseits kann man eine Fettfärbung mit Scharlach R sehr gut mit der Methylviolettfärbung auf Amyloid verbinden. Man färbt zuerst mit Scharlach R und schliesst dann die Amyloidreaktion an.

Corpora amylacea.

Diese kann man, je nachdem sie die Reaktion mit Jod und Schwefelsäure und die Metachromasie mit den Anilinfarben geben oder nicht, in zwei Gruppen teilen.

I. Die Corpora versicolorata Siegerts,

die sich besonders im Zentralnervensystem, in der Prostata und in den Lungen finden.

Die Jodreaktion nimmt man hier am besten nach der Langhansschen Methode (s. S. 164) vor oder nach folgender

Siegertschen Methode:

1. Färben der in Wasser gut ausgewaschenen Schnitte in starker Jodjodkaliumlösung bis sie tiefbraun erscheinen.

2. Entfärben derselben in konzentriertem Alkohol bis die Farbe abgegeben ist.

3. Einlegen in 10%ige Salzsäurelösung bis die Corpora amylacea als dunkle Pünktchen hervortreten.

4. Kurzes Ausziehen der Säure in Wasser.

5. Entwässern in jodhaltigem Alkohol (1 Teil offizinelle Jodtinktur, 4 Teile absoluter Alkohol).

6. Einschliessen und Untersuchen in Origanumöl.

II. Die Corpora flava Siegerts,

die sich ebenfalls im Zentralnervensystem und ferner als Psammomkörner etc. finden; sie geben die Metachromasie mit den Anilinfarben und die Jodreaktion nicht.

G. Glykogen-Degeneration.

Schon physiologisch in zahlreichen Organen, der Leber, den Muskeln, dem Knorpel und in besonders grossen Mengen im embryonalen Gewebe abgelagert, spielt das Glykogen $(C_6H_{10}O_5)_n$ auch pathologisch bei zahlreichen Entzündungen und Tumoren, sowie beim Diabetes eine grosse Rolle. Wahrscheinlich durchdringt das Glykogen die Zellen in gelöster Form und wird erst beim Einlegen der Organe in Alkohol in Form von Tropfen und Körnern ausgefällt. Da das Glykogen nach dem Tode schnell in Zucker übergeht, müssen die Stücke sehr bald nach dem Tode in die Härtungsflüssigkeit eingelegt werden, doch ist dies beim Glykogen verschiedener Organe sehr verschieden. Das Glykogen der Leber z. B. zersetzt sich weit schneller als das der Niere von Diabetikern.

Als Härtungsflüssigkeit ist, da sich das Glykogen in Wasser und wässerigen Lösungen leicht löst, nur der absolute Alkohol zu empfehlen.

Das Glykogen wird leicht in Speichel gelöst und gibt die Jodschwefelsäurereaktion nicht. Hierdurch, wie durch seine leichte Löslichkeit, unterscheidet es sich vom Amyloid, mit dem es im übrigen die Reaktionsfähigkeit auf Jod teilt.

Als Versuchsmaterial für die Farbreaktionen auf Glykogen ist eine Diabetikerniere oder die Leber eines gerade frisch getöteten Tieres zu empfehlen.

Unter den Farbreaktionen kommt zunächst die Jodreaktion in Betracht, welche das Glykogen braun färbt, bei welcher aber alles Wasser welches das Glykogen lösen würde, von den Schnitten fern gehalten werden muss.

Von diesen Jodreaktionen ist diejenige nach Ehrlich am meisten zu empfehlen.

In zweiter Linie soll die Bestsche Färbemethode wiedergegeben werden, welche einen ausserordentlichen Fortschritt bedeutet und überaus empfehlenswert ist.

In dritter Linie sollen einige andere Methoden erwähnt werden.

a) Braunfärbungen mit Jod.

1. Ehrlichsche Methode.

Hierbei wird der Kontakt mit Wasser fast ganz vermieden.

Man geht folgendermaßen vor:

1. Härten in absolutem Alkohol, Einbetten am besten in Paraffin, Schneiden, Aufkleben des Schnittes.

2. Man bringt auf den Schnitt einen Tropfen folgender Lösung:

Gummi arabicum 100 Teile,
Lugolsche Lösung 1 Teil,

bringt darauf das Deckglas und untersucht sodann.

Diese Methode hat den grossen Vorzug der Sicherheit, lässt aber Details schwer erkennen.

Deckgläschen-Präparate empfiehlt Ehrlich Joddämpfen auszusetzen, indem man sie in gut verschlossene Gefässe bringt, welche einige Jodkristalle enthalten.

Man untersucht dann in Lävulose.

2. Langhanssche Methode.

Die Methode ist bereits bei den Amyloidreaktionen besprochen (s. Seite 164).

3. Barfurthsche Methode.

1. Härten in absolutem Alkohol, Einbetten, Schneiden, Aufkleben der Schnitte.

2. Färben und Untersuchen in folgender Mischung:

Glyzerin 2 Teile,
Lugolsche Lösung 1 Teil.

Das Glyzerin löst das Glykogen allmählich, sodass die Farbe keine haltbare ist.

4. Delépinesche Methode.

1. Härten in absolutem Alkohol, Einbetten, Schneiden.

2. Färben in:

Jod 1 Teil.
absoluter Alkohol 4 Teile.

3. Aufhellen in Nelkenöl.
4. Ersetzen des Nelkenöls durch jodhaltiges Chloroform.
5. Einbetten in jodhaltigen in Chloroform gelösten Balsam.

Die ganze Prozedur, besonders das Auflegen des Deckgläschens, muss schnell vor sich gehen.

Eine kombinierte Kernfärbung und Jodreaktion ist folgende:

5. Methode von Driessen.

1. Härten in absolutem Alkohol, Einbetten, Schneiden.
2. Färben in gesättigter alkoholischer Cochenillelösung oder Mayerscher Karminlösung.
3. Differenzieren in 96 %igem Alkohol.
4. Entwässern in absolutem Alkohol 3 Minuten.
5. Aufhellen in Karbolxylol, der zu gleichen Teilen mit Lugolscher Lösung verdünnt ist (bei der Mischung schwimmt das jodhaltige Karbolxylol oben, es wird mit der Pipette entnommen): in diesem bleiben die Schnitte 3—5 Minuten.
6. Evtl. Differenzieren — aber nur bei Überfärbung — in Karbolxylol.
7. Einschliessen in Kanadabalsam.

Auch von Best stammt eine Jodmethode, doch ist bei weitem vorzuziehen die

b) Bestsche Karminmethode.

Das Glykogen wird nämlich von manchen Karminlösungen gefärbt, wenn die Mischung eine gewisse Reife erlangt hat. Dieser Prozess kann beschleunigt und haltbarer gemacht werden durch Hinzufügen von Chlorkalium oder dergl. und durch Kochen. Der Zusatz von Alkohol in einer Menge, welche die Lösung gerade an die Grenze der Ausfällung bringt, unterstützt die Färbung. Die Schnitte werden in alkoholischer Mischung differenziert. Man kann Celloidinschnitte benutzen, und Best zeigte, dass das Glykogen durch die Celloidineinbettung so relativ unlöslich wird, dass man an Celloidinschnitten auch Wasserlösungen benutzen kann, ohne die Lösung des Glykogens zu befürchten.

Paraffinschnitte sind weniger zu empfehlen. Arnold führt solche durch Entparaffinieren der aufgeklebten Schnitte, Übergiessen mit dünner Celloidinlösung und Härten dieser in 80 %igem Alkohol, gewissermaßen in Celloidinschnitte über. Lubarsch bettet in Celloidin ein, löst dies in Alkohol-Äther und bettet in Paraffin um (Azeton, Xylol).

Gefriermikrotomschnitte sind naturgemäß schon deswegen unmöglich, weil man aus dem absoluten Alkohol nicht auf dem Gefriermikrotom schneiden kann, Formol etc. aber kontraindiziert ist.

Best hat mehrere Methoden angegeben, doch wollen wir nur seine neuere praktischere, welche eine Kaliumkarminlösung verwendet, beschreiben.

Bei dieser Methode wird folgende Lösung zur Färbung benötigt:

Karmin 2,0 gr,
Kaliumcarbonat 1,0 gr,
Chlorkalium 5,0 gr,
Aqua dest. 60,0 ccm.

Man kocht einige Minuten (Achtung vor Überkochen, schäumt!) und fügt nach dem Erkalten 20 ccm Ammoniak hinzu.

Die Lösung ist sofort gebrauchsfähig und hält sich im Sommer gegen einen Monat, im Winter zwei Monate.

Zur Färbung dient folgende Mischung:

Von dieser Karminlösung 20 Teile,
Ammoniak 30 Teile,
Methylalkohol 30 Teile.

Zum Differenzieren braucht man folgende Flüssigkeit:

Absoluter Alkohol 40 Teile,
Methylalkohol 20 Teile,
Aqua dest. 50 Teile

Man verfährt dann folgendermaßen:

1. Härten in absolutem Alkohol, Einbetten in Celloidin, Schneiden.

2. Vortärben in Hämatoxylin z. B. Weigerts Eisenhämatoxylin eventl. Abspülen in Salzsäurealkohol, Wasser; diese Vorfärbung ist zwar zum Gelingen der Färbung nicht unbedingt notwendig, aber auf jeden Fall sowohl für die Glykogenmethode selbst, wie auch weil die Kerne gleichzeitig gefärbt werden, zu empfehlen.

3. Färben in der oben angegebenen mit Ammoniak und Methylalkohol verdünnten Karminlösung. Man färbt hierin 5 Minuten am besten aber weit länger, bis zu 24 Stunden.

4. Direktes Übertragen der Schnitte in obige Differenzierungsflüssigkeit eine bis mehrere Minuten, bis die Schnitte im Ganzen wieder blau erscheinen.

5. Waschen in 80%igem Alkohol.

6. Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Das Glykogen ist rot, die Kerne sind blau gefärbt. Mastzellengranula sowie das Protoplasma der Magendrüsen, Schleim, Fibrin (s. dort) und nach Ameisensäureentkalkung kalkhaltig gewesene Knochenteile (Schmorl), sowie derbes Bindegewebe erscheinen zuweilen rot mitgefärbt.

Für das Muskelglykogen empfiehlt Neukirch folgende Methode:

1. Kleine Stückchen Muskel auf Hölzchen gebunden werden 6—12 Stunden in mit Dextrose gesättigtem, wässerigen Sublimat fixiert.

2 Bis zu 6 Stunden in mit Dextrose gesättigten 30%igen Alkohol gebracht, evtl. Jodtinktur zusetzen. (s. S. 41.)

3. Einlegen in mehrfach zu wechselnden 96%igen Alkohol 1 bis mehrere Tage.

4. Einbetten in Celloidin, Schneiden.

Färben nach Best in seiner Kaliumkarminlösung mindestens 1—3 Stunden. Weiterbehandlung nach Best.

Man kann bei dieser Methode auch statt des Sublimats mit Dextrose gesättigtes 40 %iges Formol (ebenfalls 6—12 Stunden) verwenden, dann in mit Dextrose gesättigten 80 %igen Alkohol übertragen und wie oben angegeben einbetten, oder die Stücke aus der Dextrose-Formollösung in gesättigte, wässerige Dextroselösung bringen und sie auf dem Gefriermikrotom schneiden. Man färbt sie dann nach der Bestschen Methode ohne Vorfärbung mit Hämatoxylin oder nimmt letztere in mit Dextrose versetztem Delafieldschen Hämatoxylin vor.

c) Sonstige Methoden.

1. Lubarschsche Modifikation der Weigertschen Fibrinmethode.

1. Härten in absolutem Alkohol. Einbetten in Paraffin, Schneiden, Aufkleben (Japanische Methode s. S. 73).
2. Färben in Mayerscher alkoholischer Karminlösung.
3. Differenzieren in Salzsäurealkohol.
4. Waschen in absolutem Alkohol.
5. Färben mit alter starker Anilinwassermethylviolettlösung (s. Weigertsche Fibrinmethode), unter leichtem Erwärmen 2 Minuten.
6. Kurzes Abspülen in Wasser.
7. Behandeln mit der Lugolschen Lösung, mehrfach wiederholen im ganzen etwa 10 Sekunden.
8. Abtrocknen mit Filtrierpapier.
9. Differenzieren in:

Anilinöl 2 Teile,
Xylol 1 Teil.

10. Xylol mehrfach aufgiessen, Schnitte dazwischen mehrfach mit Filtrierpapier trocknen.
11. Einschliessen in Balsam.

Glykogen blauviolett, Kerne rot.

Die Färbung soll haltbarer werden (nach Lubarsch), wenn man die Präparate 1—2 Tage dem Licht aussetzt und sie dann im Dunkeln aufhebt. Sie ist aber nicht sehr zuverlässig und durch die Bestsche Methode weit überholt.

2. Mayersche Methode.

Eisengallustinte (Grübler) 1 gr,
wird in 20 ccm Wasser gelöst und
90 %iger Alkohol 30 ccm

zugesetzt. Man filtriert nach einiger Zeit.

1. Hierin entparaffinierte aufgeklebte Schnitte oder Paraffinschnitte mit dem Paraffin, einige Minuten bis Stunden färben.
2. Auswaschen in 50 %igem Alkohol.
3. Entwässern in abs. Alkohol.
4. Xylol. Balsam.

Glykogen ist, wenn auch nicht sehr schön, so doch sehr zuverlässig dargestellt. Die Methode ist sehr einfach und haltbar. Setzt man Lösung 1 etwas Ammoniak zu, so ist das Bindegewebe fast garnicht mitgefärbt.

3. Die Vastarinische Methode mit Weigerts Elastikalösung mit einer anderen Resorzin-Fuchsinlösung versetzt, hat uns keine brauchbaren Resultate ergeben.

Die bei weitem beste Methode ist die Bestsche; sie stellt auch alles Glykogen dar und gibt haltbare Präparate. Im Verein mit der Speichelreaktion, welche man auch am eingebetteten Objekt und eventl. nach der Färbung vornehmen kann, wobei Glykogen gelöst werden muss, sowie dem Nachweis irgend einer Jodreaktion ist die Bestsche Färbung ein sicheres Merkmal für Glykogen.

H. Pathologische Verhornung.

Der für die Verhornung charakteristische Stoff ist das Keratin. Von Wichtigkeit hierbei sind ferner das Keratohyalin, sowie das Eleïdin. Die Hornreaktionen sind wichtig zum Nachweis dafür, dass es sich um Plattenepithel handelt (s. deshalb auch unter Haut), vor allem bei hyperplastischen Prozessen und Tumoren, d. h. Kankroiden.

I. Keratin.

Dasselbe färbt sich mit sauren Anilinfarben, besonders mit der Pikrinsäure, welche daher gut auch nach der Hämatoxylinvorfärbung, aber am besten in Form der van Giesonfärbung anzuwenden ist. Bei der Gram-Weigertmethode färbt sich das Horn dunkelblau und gibt zum Unterschied von anderen, so tingierbaren Substanzen nach Ernst auch nach Behandlung mit Salzsäurealkohol, als einziger Bestandteil, die blaue Farbe nicht ab. Nach meinen Erfahrungen ist dies nur der Fall, wenn man sehr dünnen Salzsäurealkohol sehr kurze Zeit verwendet.

Das Ehrlich-Biondi-Heidenhainsche Dreifarbengemisch färbt Horn rot. Bei Härtung in Flemmingscher Lösung mit Nachfärbung in Safranin oder Gentianaviolett (s. unter Mitosen) wird das Horn ebenfalls rot, bezw. violett gefärbt. Es färben sich auch die kleinsten Hornmassen bei der Malloryschen Dreifarbenmethode (s. S. 133) leuchtend rot bezw. orange, desgl. bei der Pasinischen Methode (s. unten). Bei der Heidenhainschen Eisenhämatoxylinmethode färben sich, wenn man in der Farblösung mindestens 2 Stunden färbt, Hornsubstanzen tief-blauschwarz.

II. Das Keratohyalin.

Es findet sich in Form feinster Körnchen physiologisch in den Zellen des Stratum granulosum. In schwach alkalischen Lösungen quellen sie auf, in starker Mineralsäure werden sie gelöst. Sie färben sich bei der Weigertschen Fibrinmethode, mit Eisenhämatoxylin und mit Karmin. Zu ihrer speziellen Färbung dienen folgende Methoden:

1. Unnasche Methode.

1. Härten, Einbetten, Schneiden.
2. Überfärben der Schnitte mit Hämatoxylin.
3. Einlegen der Schnitte in $^1/_2$ promillige Kaliumhypermanganatlösung 10 Sekunden.
4. Differenzieren und Entwässern in absolutem Alkohol.
5. Xylol. Balsam.

Die Keratohyalinkörnchen erscheinen dunkelblau.

Statt des Kaliumhypermanganats (Nr. 3) kann man 33 %ige Lösung von Eisenvitriol 10 Minuten einwirken lassen. Die Kerne kann man mit Safranin nachfärben.

2. Pasinische Methode (Modifikation einer Unnaschen Methode).

1. Härten in Alkohol, Einbetten in Paraffin oder Celloidin, Schnitte aufkleben, Celloidinschnitte evtl. entcelloidinieren. Übertragen der Schnitte in Wasser.

2. Übertragen der Schnitte in 2 %ige Lösung von Phosphorwolframsäure für 10 Minuten.

3. Kurzes Wässern in destilliertem Wasser.

4. Färben 15—20 Minuten in folgender Mischung:
Unnasche Wasserblau-Orceinmischung 10 Tropfen,
2 %ige Eosin B. A. (Grübler)-Lösung in 50 %igem Alkohol 12 Tropfen,
Gesättigte wässerige Säurefuchsinlösung 1 Tropfen,
Neutrales Glyzerin 5 Tropfen.

Die Unnasche Wasserblau-Orceinlösung wird am besten von Grübler bezogen. Sie besteht aus:

Wasserblau 1 gr,
Orcein 1 gr,
Eisessig 5 ccm,
Glyzerin 20 ccm,
Absoluter Alkohol 50 ccm,
Destilliertes Wasser 100 ccm.

5. Wässern in destilliertem Wasser.

6. Differenzieren in absolutem Alkohol.

7. Übertragen der Schnitte für wenige Sekunden in 2 %ige Phosphorwolframsäure.

8. Entwässern in absolutem Alkohol.

9. Xylol. Balsam.

Keratohyalinkörner sowie Epithelfasern und Kerne sind rot, Protoplasma ist blau, Hornsubstanz gelbrot dargestellt.

Die Methode gelingt übrigens auch nach Formolhärtung und an Gefrierschnitten leicht und gibt schöne an die Malloryfärbung erinnernde Bilder.

Die Pasinische Methode ist daher recht empfehlenswert.

3. Ficksche (K. Herxheimersche) Methode.

1. Härten in Alkohol, Einbetten, Schneiden.

2. Färben in wässeriger, gesättigter Lösung von Kresylechtviolett (Leonhardt & Co., Mühlheim a. M.) 4 Minuten.

3. Gründliches Wässern.

4. Differenzieren in 96 %igem Alkohol, bis das Zwischengewebe farblos, das epitheliale Protoplasma hellviolett erscheint (Kontrolle unter dem Mikroskop).

5. Entwässern in absolutem Alkohol.

6. Xylol. Balsam.

Kerne sind blauviolett, Plasma ist hellblauviolett, Horn dunkelviolett, Kerotahyalin rot gefärbt.

4. Methode von Karl Herxheimer.

1. Härten, Einbetten in Celloidin, Schneiden, Aufkleben, Entcelloidinieren.

2. Färben auf dem Objektträger in Anilinwassermethylviolett 30 Minuten.

3. Abtrocknen und Differenzieren in 2 %igem Mentholvasogen (Pierson, Hamburg) 15—30 Minuten, so zwar, dass man das Vasogen immer wieder abtupft und zusetzt; es soll ein hellblauer Ton des Präparates zurückbleiben.

4. Xylol. Balsam.

Keratohyalingranula erscheinen blauviolett.

III. Eleïdin.

Es findet sich im Stratum lucidum und ist vom Keratohyalin, von dem es vielleicht abstammt, doch morphologisch und chemisch verschieden. Es färbt sich zwar auch wie das Keratohyalin mit Karmin, aber im Gegensatz zu diesem nicht mit Hämatoxylin. Es schwärzt sich zwar mit Osmiumsäure, doch wird seine Fettnatur (s. auch unter Fett), z. B. von Weidenreich, bestritten. Besondere Methoden sind:

1. Buzzische Methode.

1. Härten, Einbetten, Schneiden.

2. Färben in Congorotlösung (2—3 Tropfen einer 1 %igen wässerigen Lösung von Congorot einem kleinen Schälchen mit Wasser zugefügt) 2—3 Minuten.

3. Wässern.

4. Entwässern in absolutem Alkohol.

5. Xylol. Balsam.

Das Eleïdin erscheint tiefrot, die sonstigen Gewebe sind hellrot.

Schiebt man zwischen Nr. 3 und 4 eine Gegenfärbung mit Hämatoxylin (Salzsäurealkohol zu vermeiden) ein, so ist das Eleïdin tiefrot, das Keratohyalin blaurot gefärbt. Färbt man wie oben angegeben in Congorot und schiebt zwischen Nr. 3 und 4 eine Behandlung mit dünner Säure ein, so wird das Eleïdin nicht rot, sondern blau gefärbt.

Statt mit Congorot kann man das Eleïdin auch mit einer dünnen Nigrosinlösung färben.

2. Dreysel und Opplersche Methode.

1. Härten in absolutem Alkohol 2—3 Tage. Einbetten in Celloidin, trocken Schneiden.

2. Färben in:

Karmin 1 gr,
starker Liquor ammonii caustici 1 ccm,
gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung 1 ccm,
Wasser 200 ccm.

Einige Tage offen stehen lassen oder auf dem Wasserbad erwärmen, sodass ein Teil des Ammoniaks verdunstet, dann filtrieren.

Hierin färbt man 2—6 Minuten.

3. Schnitte auf den Objektträger aufziehen, mit Filtrierpapier trocknen, in Glyzerin untersuchen, oder

3. Übertragen des Schnittes in $^1/_2$ %ige alkoholische Lösung von Pikrinsäure 1 Minute.

4. Entwässern in absolutem Alkohol.

5. Xylol. Balsam.

Zwischen Nr. 2 und 3 kann man wässern und dann eine Färbung in stark verdünnter Lösung von Hämatoxylin einschieben; dann erscheint das Eleïdin rot, das Keratohyalin blau.

J. Abnorme Pigmentierung.

Es ist dies die abnorme Einlagerung gefärbter Substanzen in die Körpergewebe. Infolgedessen ist es wichtig, die Schnitte ungefärbt zu untersuchen, um so die Eigenfarbe jener wahrzunehmen. Will man

allgemeine Färbungen zu Übersichtszwecken vornehmen, so färbt man am besten nur die Kerne und lässt das Protoplasma und die Zwischensubstanzen ungefärbt, da sich die Eigenfarbe der Pigmente so am besten abhebt. Da diese Pigmente gewöhnlich eine gelbbraune oder schwarze Farbe haben, kontrastieren sie in der Regel besser mit einer roten Kernfarbe (Lithionkarmin zu empfehlen) als mit einer Hämatoxylin-Kernfärbung.

Man kann die Pigmente den Quellen des Pigmentes entsprechend am besten einteilen in:

I. Hämatogene Farbstoffe,
II. Gallenfarbstoffe,
III. Autochtone Pigmente:
  1. Melanotische,
  2. Lipochrome (Abnutzungspigmente),
  3. Pigment der Ochronose.
IV. Von aussen eingeführte Pigmente:
  1. Tätowierung,
  2. Kohle- und Staub-Krankheiten der Lunge (Koniosen).
V Niederschläge gelöst eingeführter Farbstoffe.

I. Hämatogene Farbstoffe.

Sie finden sich überall aus dem Blutfarbstoff der roten Blutkörperchen tstanden, wo solche aus der Zirkulation ausgeschaltet sind, also besonders bei Blutungen. Das Hämoglobin diffundiert hierbei zu Hämatoidinkristallen, welche sich durch gelbrote Farbe und ihre Gestalt — rhombische Tafeln und Nadeln — auszeichnen.

Der Blutfarbstoff — welcher in den roten Blutkörperchen ohne weiteres Eisenreaktionen nicht gibt — erleidet des weiteren eine Umwandlung in sogenanntes Hämosiderin, welches Eisenreaktionen gibt. Dies findet sich auch nach Zerstörung von roten Blutkörperchen in der Blutbahn selbst, so bei der Malaria, manchen bakteriellen Erkrankungen oder Vergiftungen z. B. mit chlorsaurem Kalium, Morcheln etc.; des weiteren findet sich dasselbe auch bei marantischen Zuständen. Altes Blutpigment gibt meist keine Eisenreaktion mehr. Ferner kommt noch ein eisenfreier Farbstoff vor, das sogenannte Hämofuscin, z. B. im Dünndarm von Potatoren. Auch bei der Malaria findet sich ein eisenfreies Pigment.

Nach dem Gesagten ist zwar nicht alles aus dem Blutfarbstoff abzuleitende Pigment eisenhaltig, vor allem älteres nicht, es geht aber aus dem Gesagten hervor, wie wichtig es ist, nachzuweisen, ob das Pigment eisenhaltig ist oder nicht.

Zum Nachweis von Eisen dienen am besten folgende zwei Reaktionen:

a) die Verbindung mit Ferrocyankalium (Berlinerblau-Reaktion), bezw. mit Ferricyankalium.

b) die Schwarzfärbung mit Schwefelammonium.

Es ist nicht immer ganz leicht, die Eisenreaktionen zu erzielen, besonders wenn das Eisen eine sehr feste Bindung mit Eiweisskörpern eingegangen hat; auch fällt bei älteren Hämosiderinen die Reaktion oft schlecht aus.

Es müssen bei allen mikrochemischen Reaktionen auf Eisen fremde Eisenteile vollständig vermieden werden. Statt der Stahlnadeln müssen also unbedingt Glasnadeln benutzt werden, auch muss man aus den Flaschen, von den Objektträgern und sonstigen Glasutensilien jede Spur von Eisen durch Abspülen mit Salzsäure, Wasser und Alkohol vorher entfernt haben. Ferner muss man eisenfreies Wasser benutzen, besonders wenn die Präparate Kalk, welcher auch die feinsten Spuren von Eisen niederschlägt, enthalten.

Zur Härtung ist am meisten der Alkohol geeignet, auch der Formolalkohol, nächstdem das Sublimat, während das Formol, und vor allem die Orthsche Flüssigkeit, sowie andere chromsäurehaltige Fixierungsflüssigkeiten schlechte Resultate geben. (Falckenberg).

Man härtet also in Alkohol und bettet ein, oder bringt die Stücke aus dem Alkohol in Formol, welches dann nichts mehr schadet und schneidet auf dem Gefriermikrotom.

a) Berlinerblau-Reaktion.

Hierbei bildet sich durch Verbindung des Eisenoxyds mit dem Ferrocyankalium: Ferriferrocyankalium d. h. Berlinerblau.

Es empfiehlt sich hier

1. folgende einfache Methode nach Perls.

1. Einlegen der Schnitte in 2 %ige wässerige Lösung von Ferrocyankalium (gelbes Blutlaugensalz) einige Minuten.

2. Übertragen der Schnitte in $^1/_2$—1 %ige wässerige Salzsäure oder in den gewöhnlichen Salzsäurealkohol.

3. Übertragen und Untersuchen in Wasser oder Glyzerin,

oder, um Dauerpräparate herzustellen,

3. Entwässern in absolutem Alkohol.

4. Xylol. Balsam.

Das Eisenpigment ist dann blau gefärbt.

Statt der getrennten Ferrocyankalium- und Salzsäurebehandlung kann man diese auch kombinieren. Man benutzt dann 25 ccm 1 %ige Salzsäure, welcher 3 Tropfen einer frisch hergestellten kalt gesättigten wässerigen Lösung von Ferrocyankalium beigemengt sind und lässt die Schnitte hierin 5 Minuten (Wicklein), oder man benutzt 25 ccm

1%ige Salzsäure, der man 8—10 Tropfen einer 2%igen Ferrocyankaliumlösung zugesetzt hat und lässt die Schnitte hierin $^1/_2$—1 Stunde. (Falckenberg).

In beiden Fällen muss man gründlich in Wasser auswaschen.

Man kann die Kerne mit Karmin nachfärben und zwar benutzt man hierzu Alaunkarmin: Lithionkarmin würde nämlich bei Nachfärbung dadurch, dass das Berlinerblau von Alkalien in Eisenoxyd und Ferrocyankalium zersetzt wird, die Reaktion illusorisch machen.

Will man das Lithionkarmin benutzen, so muss man vorfärben wie bei folgender

2. Methode von Stieda.

1. Färben der Schnitte in Lithionkarmin mehrere Minuten.
2. Differenzieren in Salzsäurealkohol etwa 1 Stunde.
3. Kurzes Abspülen in Wasser.
4. Einlegen der Schnitte in 2%ige wässerige Ferrocyankaliumlösung 3—6 Stunden.
5. Übertragen in Salzsäurealkohol 6—12 Stunden.
6. Kurzes Abspülen in destilliertem Wasser.
7. Entwässern in absolutem Alkohol.
8. Xylol. Balsam.

Man kann auch Lithionkarmin unter Zusatz von Ferrocyankalium benutzen, doch ist dies weniger zu empfehlen.

3. Turnbullblau-Reaktion.

Färben sich bei den gewöhnlichen Berlinerblau-Reaktionen die Eisenoxyd-, so färben sich hierbei die Eisenoxydulverbindungen. Man benutzt hierbei also Ferricyankalium. Das sich bildende Ferroferricyankalium ist Turnbulls Blau. Über die Kombination dieser Methode mit der Schwefelammonium-Methode s. nächste Seite.

b) Methoden mit Schwefelammonium.

4. Quinckesche Methode.

1. Färben der Schnitte in einer nicht ganz frischen, auf jeden Fall schon gelben Lösung von Schwefelammonium 5—30 Minuten, bis die Schnitte dunkelgrün erscheinen.
2. Kurzes Abspülen in Wasser.
3. Untersuchen in Glyzerin, dem etwas Schwefelammoniumlösung zugesetzt ist, oder
3. Entwässern in absolutem Alkohol.
4. Xylol. Balsam.

Das Eisen ist grünschwarz gefärbt. Man kann auch eine Karminfärbung anschliessen.

Diese Methode ist nicht sehr elektiv, da auch Silber, Blei und Quecksilber dieselbe geben.

5. Kombinationsmethode von Hall.

Diese Methode vermeidet, dass sich Spuren von Eisen wie bei den anderen Methoden im Alkohol lösen, indem das Eisen zunächst in das unlösliche Fe $(OH)_2$ übergeführt wird. Es ist diese Methode also besonders empfindlich und weist Spuren von Eisen bezw. dessen Gesamtquantität nach. Man verfährt folgendermaßen:

1. Härten der frischen Gewebsstücke 24 Stunden in:

Schwefelammonium 30 ccm,
absoluter Alkohol 70 ccm,

geeignet für Leber, Milz, Knochenmark,

oder in:

Schwefelammonium 5 ccm,
absoluter Alkohol 70 ccm,
Wasser 25 ccm,

geeignet für Darm.

2. Nachhärten in steigendem Alkohol.

Die Eisenverbindung wird hierbei in Fe $(OH)_2$ übergeführt, und die Stücke blassen, da dies fast farblos ist, ab. Man bettet in Paraffin ein. Die Schnitte werden aufgeklebt und entparaffiniert. Um sie wieder in eine gefärbte Eisenverbindung überzuführen, legt man sie:

3. am besten für 20 Minuten in:

Ferrocyankalium 1,5 gr,
Salzsäure 0,5 ccm,
Wasser 100 ccm.

4. Waschen in Wasser.
5. Entwässern in absolutem Alkohol.
6. Xylol. Balsam.

Das Eisen ist dann blau gefärbt.

Oder man legt die Schnitte

3. nochmals in die obige Schwefelammoniumlösung, dann wird das Eisen grünschwarz gefärbt.

Die Kerne kann man rot gegenfärben, man schiebt dann am besten eine Lithionkarminfärbung zwischen Nr. 2 und 3 ein.

6. Kombination der Turnbullblau-Reaktion und der Schwefelammoniummethode nach Tirmann und Schmelzer.

Es werden hier Eisenoxyd- und Eisenoxydulverbindungen gleichzeitig dargestellt.

1. Einlegen von Gefrierschnitten nach Alkoholhärtung und Übertragen in Formol oder von Celloidinschnitten nach Alkoholhärtung in destilliertes Wasser.

2. Einlegen der Schnitte in eine ziemlich frische Lösung von Schwefelammonium, welche nicht älter als höchstens 3 Wochen sein soll, einige Minuten (manchmal sind viele Stunden nötig).

3. Abspülen in Wasser.

4. Einlegen der Schnitte etwa 1 Minute in 20 %ige Ferricyankaliumlösung, der einige Tropfen dünner Salzsäure zugefügt sind.

5. Gründliches Abspülen in destilliertem Wasser.

6. Entwässern in absolutem Alkohol.

7. Xylol. Balsam.

Zwischen Nr. 5 und 6 kann man eventl. eine Gegenfärbung der Kerne mit Alaunkarmin vornehmen.

Statt der Eisenreaktionen am Schnitt ist nach Zalewski eine Vornahme der Reaktionen am ganzen Stück vorzuziehen.

Er empfiehlt folgendes Verfahren:

α) Ferrocyankaliummethode.

1. Einlegen der Stücke in 65 %igen Alkohol 24 Stunden,
2. in 1 %ige Lösung von Ferrocyankalium in 96 %igem Alkohol 2—3 Tage.,
3. in 1 %ige Lösung von Ferrocyankalium in 65 %igem Alkohol einige Stunden,
4. in Salzsäurespiritus 2—3 Tage.
5. Einlegen in Formol, Schneiden auf dem Gefriermikrotom.

β) Schwefelammoniummethode.

1. Einlegen der Stücke in 65 %igen Alkohol 24 Stunden.
2. In 96 %igen Alkohol, dem einige Tropfen starker, gelber Schwefelammoniumlösung zugesetzt sind, 24 Stunden (öfters schütteln).
3. Desgleichen in ebenso versetzten absoluten Alkohol.
4. Einbetten, Schneiden.

Der Alkohol soll hierbei das Gefäss bis zum Rand anfüllen, damit die Luft nicht die Farbe des Eisensalzes durch Oxydation verändern kann. Korkpfropfen, welche schon an sich die Schwefelammoniumreaktion geben, sind zu vermeiden.

Bei der Methode *α*) gelingt eine Färbung der Kerne mit Karmin besser als bei Methode *β*).

Zur Darstellung des mit Eiweissverbindungen so innig verschmolzenen Eisens (maskiertes Eisen), dass es sich mit allen bisherigen Methoden nicht darstellen lässt, dient am besten die

8. Mc Callumsche Methode.

1. Schnitte einlegen in Bungesche Flüssigkeit:

96 %iger Alkohol 95 Teile,
25 %ige Salzsäure 10 Teile.

1—2 Stunden bei 50—60 ° oder 8—10 Stunden im Brütofen bei 37 °.
Hierbei wird das nicht organisch gebundene Eisen entfernt.

2. Einlegen der Schnitte in sauren Alkohol:

entweder Salpetersäure (spezifisches Gewicht 1,4) 3 ccm,
96 %igen Alkohol 100 ccm,
oder Schwefelsäure 4 ccm,
96 %iger Alkohol 100 ccm.

3. Abspülen der Schnitte in absol. Alkohol.

4. Einlegen der Schnitte in destilliertes Wasser.

5. Färben des so „demaskierten“ Eisens in folgender frisch präparierten Lösung:

1,5%ige Ferrocyankaliumlösung (nicht älter als eine Woche) 1 Teil,
0,5%ige Salzsäurelösung 1 Teil,
5 Minuten.

6. Wässern.

7. Nachfärben in einer 1%igen Lösung von Eosin (oder Safranin) in 30%igem Alkohol 3 Minuten (bei Safranin 30 Minuten).

8. Entwässern in absolutem Alkohol.

9. Aufhellen in Zedernholzöl.

10. Einschliessen in Balsam, der in Benzol gelöst ist.

Die Schnitte sollen im Dunkeln aufbewahrt werden.

Man kann auch an Stelle von Nr. 5 die Schwefelammoniummethode benutzen, oder in einer $^1/_2$%igen wässerigen Hämatoxylinlösung färben. Dann wird das Eisen ganz dunkelblauschwarz dargestellt, während sich das übrige Gewebe gelbbraun färbt. Man kann dann überschüssiges Hämatoxylin durch Einlegen der Schnitte in absoluten Alkohol-Äther ana auf $^1/_2$—1 Stunde ausziehen, sodass dann nur noch das Eisen dunkel gefärbt bleibt, in Nelkenöl aufhellen und in Balsam einschliessen.

Zur gleichzeitigen Darstellung von Fett und Eisen dient

9. die Methode von Vallard.

Lösung 1. 2 gr Karmin werden in:
10 ccm Wasser und
8 Tropfen reiner Salzsäure unter Kochen gelöst und
40 ccm absol. Alkohol zugesetzt,
tüchtig umgerührt, warm filtriert, sowie das Filtrat auf 50 ccm mit absol. Alkohol aufgefüllt.

Lösung 2. Gesättigte Lösung von Scharlach R in 80%igem Alkohol.

Lösung 3. 1 gr Ferrocyankalium wird in 20 ccm destilliertem Wasser unter Erwärmen gelöst.

Im Messzylinder werden 2 ccm der Lösung 1
mit 2 ccm der Lösung 2 und
2—3 Tropfen reiner Salzsäure gemischt,
sodann 2 ccm der Lösung 3 zugesetzt.

Meist wird die Lösung klar, bleibt sie auch beim Schütteln trüb, so wird filtriert.

Formolfixierte Gefrierschnitte kommen in die Mischung auf 3—15 Minuten, werden sodann in Salzsäurealkohol 30 Sekunden abgespült, in Wasser gewaschen und in Glyzerinleim eingeschlossen.

Kerne rot, Fett orange, Eisenpigment blauschwarz mit Stich ins Grüne gefärbt.

II. Gallenpigmente.

Hier kommt besonders das Bilirubin, dessen Zusammensetzung der des Hämatoidins entspricht, in Betracht.

Es ist besonders wichtig bei dem Ikterus.

Das Pigment ist gelb gefärbt, und die Farbe ist charakteristisch, doch muss man daran denken, dass es bei Härtung in Formol oder Sublimat oft einen grünen Farbton annimmt.

Die Gallenfarbstoffe werden mittels der Gmelinschen Methode nachgewiesen, am besten unter Kontrolle des Mikroskops, indem man

an den Rand des Deckgläschens einen Tropfen von Salpetersäure, die eine Spur salpetrige Säure enthält, bringt und sie unter das Deckgläschen einzieht.

Es entstehen so bei Vorhandensein von Gallenpigment nach einander grüne, rote und blaue Färbungen.

Gelingt die Reaktion so nicht, so behandelt man das Präparat vorher am besten mit sehr dünner Kalilauge und wiederholt die Probe.

III. Autochthone Pigmente.

Hierher gehört:

1. Das Melanotische Pigment, wie es sich in den tieferen Schichten der Epidermis, im Corium, im Auge, zum Teil in Chromatophoren eingeschlossen schon physiologisch und unter pathologischen Bedingungen bei der Addisonschen Krankheit, in vielen Nävi, sowie melanotischen Geschwülsten findet. Diese Pigmente sind besonders dunkel gefärbt und enthalten kein Eisen.

Nach Unna soll sich nach Behandlung der Schnitte mit Karbolfuchsin und konzentrierter wässeriger Tanninlösung das Melanin entfärben, während die Blutpigmente rot gefärbt bleiben, ferner sollen nach Behandlung mit polychromem Methylenblau und Tanninlösung das Melanin hellgrün, Blutpigmente schwarz dargestellt sein.

Melanotisches Pigment wie seine farblose Vorstufen, besonders in Haut und Augen, färben sich bei Verwendung von Silbermethoden (Bielschowsky- oder Levaditi- bezw. Bertarelli-Volpinosche Methode) nach Schreiber und Schneider, was ich bestätigen kann.

2. Die in Ganglienzellen, zahlreichen Drüsenepithelien, im Herzmuskel etc. sich schon physiologisch findenden und unter pathologischen Bedingungen (braune Atrophie) stark vermehrten sogenannten Abnutzungspigmente bestehen aus einem Fettpigment (Lipochrom); sie geben daher Fettreaktion; es war von ihnen schon bei den Fetten und fettähnlichen Körpern die Rede.

Ihnen nahe steht das Luteïn der Luteïnzellen (s. auch unter „Lipoiden"), welches auch nach Behandlung mit Alkohol und Äther noch die Sudan- bezw. Fettponceaufärbung gibt.

Im Gegensatz zu den eben genannten „Lipochromen", welche zumeist eine Schwefelsäure- und Jodjodkalium-Reaktion nicht geben und daher den aus der Botanik genommenen Namen „Lipochrome" eigentlich nicht verdienen, gibt das Luteïn diese Reaktion. Bei Zusatz von Schwefelsäure färbt es sich zunächst blassgrün, dann blau. Bei Zusatz von Lugolscher Lösung färbt es sich ähnlich.

3. das Pigment der Ochronose, besonders in den Knorpeln. Es ist daran zu erinnern, dass sich nach Formolhärtung in der Nähe von Blutungen manchmal ein ähnliches Pigment künstlich bildet. (Pseudoochronose.)

IV. Von aussen eingeführtes Pigment.

1. Bei Tätowierung der Haut.

2. Bei Einatmung durch die Lunge: Koniosen.

Hier kommt zunächst Kohle in Betracht. Diese zeichnet sich durch ihre tiefschwarze Farbe aus und lässt sich von anderen Pigmenten dadurch unterscheiden, dass konzentrierte Schwefelsäure sie nicht angreift (Kieselstaub ebenfalls nicht). Des weiteren kommen in der Lunge Ablagerungen von Kalkstaub und Eisenstaub, welche die betreffenden Reaktionen geben, in Betracht.

V. Niederschläge gelöst aufgenommener Farbstoffe.

Hier kommt ausser dem Blei besonders das Silber in Frage, welches schwarz erscheint.

Am besten Gegenfärbung mit Karmin.

Auch manche im Körper vorkommenden Bakterien bilden eigene Pigmente.

Manchmal kann es wichtig sein, um feinere Strukturen zu studieren, erst die Pigmente zu entfernen. Man kann dies durch Lösung der Pigmente, besonders der Eisenpigmente, in starken Mineralsäuren oder Alkalien (Natronlauge in alkoholischer Lösung) erreichen, oder aber man bleicht die Pigmente durch Behandlung mit Chlor oder durch Oxydation und Reduktion (Kaliumhypermanganat und Oxalsäure etc.). (Wegen aller Details s. Seite 56).

K. Verkalkung. Konkrementbildung.

Der Kalk, im normalen Körper bekanntlich vor allem im Knochen vorhanden, schlägt sich unter pathologischen Bedingungen besonders in abgestorbenen oder im Absterben begriffenen Gewebsteilen, ferner in Produkten der Fibringerinnung und in hyalinen Substanzen mit Vorliebe nieder. Chemisch handelt es sich hier teils um kohlensauren, teils um phosphorsauren Kalk, während der oxalsaure eine geringere Rolle spielt.

Zugleich mit dem Kalk findet sich in nekrotischen Geweben oft Eisen. Desgleichen auch physiologisch z. B. im fötalen Knochen, deshalb können hier beide Substanzen nachgewiesen werden.

Wichtig sind für den Kalknachweis zunächst ungefärbte Präparate. Der Kalk zeichnet sich hier durch seine starke Lichtbrechung aus. Seine Körner und Schollen erscheinen im auffallenden Licht hellglänzend, im durchfallenden dunkel.

Ein besonderes Diagnostikum ist seine Löslichkeit in Säuren, so in Salzsäure, wobei man den kohlensauren Kalk an dem Auftreten von Gasbläschen (CO_2) erkennen kann, während solche bei Auflösen von phosphorsaurem Kalk nicht auftreten.

Bei Auflöung mittels Schwefelsäure bilden sich feine Nadeln (Gipskristalle); da sich diese leicht in Wasser lösen, setzt man die Schwefelsäure am besten neben das Deckgläschen und bringt das Objekt zwischen Objektträger und Deckgläschen in mittelstarken Alkohol.

Löst man den Kalk in Salzsäure und setzt gleichzeitig oxalsaures Ammonium hinzu, so bilden sich Oktaëder von oxalsaurem Kalk.

Beim Härten kalkhaltiger Objekte darf man solche Flüssigkeiten, welche Kalk lösen, nicht verwenden; auch bei Fixation in Formol muss man seines Gehaltes an Ameisensäure wegen wenigstens eine zu lange Fixierung vermeiden.

Zur Darstellung des Kalkes im allgemeinen dient:

I. seine Färbung mit Hämatoxylin.

1. Hämateïnmethode von Leutert.

1. Härten, Einbetten in Celloidin, Schneiden.
2. Einlegen in gesättigte alkoholische Hämateïnlösung 15 Minuten.
3. Abspülen in fliessendem Wasser 15 Minuten.
4. Nachfärben in 1%iger wässeriger Safraninlösung etwa 10 Sekunden.
5. Abspülen in Wasser.
6. Differenzieren in 96%igem Alkohol, bis die Kerne gut heraus kommen.
7. Kurzes Entwässern in absolutem Alkohol.
8. Xylol. Balsam.

Kalk dunkelblau, Kerne rot.

Diese Methode ist aber nicht spezifisch, da auch Eisen- und Magnesiumsalze dieselbe Reaktion geben. Man muss diese daher erst (mit Oxalsäure) entfernen.

Es geschieht dies bei der

2. Methode von Roehl.

1. Einlegen der Schnitte in konzentrierte wässerige Oxalsäurelösung, der dasselbe Quantum destilliertes Wasser zugesetzt ist, $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde, bis ein Kontrollschnitt auf Eisen gefärbt (Berlinerblaureaktion) zeigt, dass solches nicht mehr vorhanden ist.

2. Auswaschen in destilliertem Wasser.

3. Färben in 1 %iger wässeriger Hämatoxylinlösung, die mittelalt sein soll, 5—10 Minuten.

4. Einlegen in destilliertes Wasser, mit einigen Tropfen Ammoniak, bis die Schnitte im ganzen farblos, nur noch die kalkhaltigen Teile gefärbt erscheinen.

5. Abspülen in Wasser.

6. Eventuell Nachfärben mit Safranin.

7. Entwässern in absolutem Alkohol.

8. Xylol. Balsam.

Der Kalk ist dunkelviolett, die Kerne sind rot gefärbt.

Statt mit Hämatoxylin kann man (Nr. 3) auch mit folgender Lösung färben:

Eine Messerspitze der 20%igen Alizarinpaste (Höchst) wird in Wasser aufgeschwemmt mit 3 Tropfen 33%iger Sodalösung versetzt und sodann filtriert. Hierin färbt man etwa 5 Minuten.

Dann wird in Wasser abgespült. Entwässert etc.

Das Kalk ist dann dunkel violett, die Zellkerne sind hell gefärbt.

Lange hält sich diese Färbung nicht.

Makroskopisch kann man die kalkhaltigen Partien nach Schmorl schon darstellen, wenn man die Gewebsstückchen 12—24 Stunden im Brütofen in die Weigertschen Kupferbeize (s. unter Markscheiden) legt, der man zur Härtung 10% käufliches (40%iges) Formol zugesetzt hat. Wäscht man dann in fliessendem Wasser ab, so treten die kalkhaltigen Partien durch ihre grünblaue Farbe hervor.

II. Methoden zum Nachweis speziell des phosphorsauren Kalkes.

3. v. Kossasche Silbermethode.

1. Härten in Alkohol, Formol (kurz) etc. Einbetten oder Gefriermikrotom-Schnitte.

2. Einlegen der Schnitte in 1—5%ige Silbernitratlösung an hellem Licht 10 Minuten bis 1 Stunde.

3. Auswaschen in destilliertem Wasser.

4. Übertragen der Schnitte in 5%ige Lösung von unterschwefligsaurem Natrium (um das überflüssige Silbernitrat zu entfernen).

5. Gründliches Wässern.

6. Entwässern in absolutem Alkohol.

7. Xylol. Balsam.

Es bildet sich hierbei Silberphosphat, und unter Einfluss des Lichtes wird dieses zu metallischem Silber reduziert.

Der Kalk ist ganz schwarz gefärbt, die Kerne kann man mit Alaunkarmin (einzuschieben zwischen Nr. 1 und 2) oder mit Safranin (einzuschieben zwischen Nr. 5 und 6) rot färben.

Eine andere Silbermethode ist die:

4. Stöltznersche Methode:

1. Die Schnitte kommen aus destilliertem Wasser in destilliertes Wasser, dem man einige Tropfen Argentum nitricum zugesetzt hat auf 5 Minuten.

2. Abspülen in destilliertem Wasser.

3. Überführen in eine dünne Lösung eines photographischen Entwicklers z. B. Pyrogallol, in welcher die verkalkten Stellen sofort schwarz hervortreten.

4. Entwässern in absolutem Alkohol.

5. Xylol. Balsam.

Für feinere Studien geeignet ist die:

5. Methode von Roehl.

1. Übertragen der Schnitte in ammoniakalische Kupfersulfatlösung, welche nur einen geringen Überschuss von Ammoniak enthält auf 5 Minuten.

2. Gründliches Auswaschen in destilliertem Wasser.

3. Färben mit Weigertschem Hämatoxylin:

Hämatoxylin 1 gr,
Alkohol absolutus 10,0 ccm,
90 %iger Alkohol 90 ccm,
15 Minuten.

4. Differenzieren in Weigertscher Boraxferricyankalium Differenzierungsflüssigkeit (s. Markscheidenfärbung), welcher das gleiche Quantum destilliertes Wasser zugesetzt ist.

5. Wässern.

6. Entwässern in absolutem Alkohol.

7. Xylol. Balsam.

Der Kalk ist schwarz dargestellt.

Nach Roehl ist eine mikrochemische Reaktion auf phosphorsauren Kalk nur nach folgender Methode zu erbringen:

6. Methode von Roehl mit molybdänsaurem Ammonium.

1. Dünne Schnitte kommen einige Sekunden in salpetersaure 1 %ige Lösung von molybdänsaurem Ammonium.

2. Auswaschen in Wasser mit Zusatz von etwas Salpetersäure.

3. Reduzieren in einer Lösung von Zinnchlorür.

Der phosphorsaure Kalk erscheint dann dunkelblau, das übrige Gewebe soll hellblau gefärbt sein, färbt sich aber zuweilen zu intensiv mit.

Nicht nur das Silber zeigt Affinität zum Kalk, sondern auch zahlreiche andere Metalle, so Blei, Kobalt, Kupfer, Eisen, und es lassen sich damit ebenfalls Färbungen erzielen.

Unter pathologischen Bedingungen bildet sich auch fettsaurer Kalk, z. B. bei der Atherosklerose. Über seinen Nachweis mittels der Fischlerschen Methode und die Unterscheidung von phosphorsaurem Kalk s. Seite 155.

Unter den Konkrementen sind die Corpora amylacea schon Seite 167 erwähnt. Ebenso die Psammonkörner Seite 168.

Anhang.

Einige mikrochemische Reaktionen zum Nachweis in den Geweben befindlicher anorganischer und organischer Stoffe.

Über die Nachweise des Glykogens und Eisens s. Seite 168 und 177.

Silber und Blei geben mit Schwefelammonium dieselbe Reaktion wie das Eisen (s. Quinckesche Methode S. 178).

Kupfer gibt bei Behandlung mit Ferrocyankalium und Salzsäure (Ausführung der Methode wie beim Eisen) gelbbraune Färbung. Mit dem Hämatoxylin gibt es eine dunkelblaue Reaktion.

Phosphor wird nach folgender Methode Mc Callums nachgewiesen:

Frische Stückchen Gewebe werden in Alkohol gehärtet, eingebettet und Schnitte mit frisch bereiteter salpetersaurer Molybdänsäurelösung (1 Gewichtsteil Molybdänsäure gelöst in 4 Teilen Ammoniak [spez. Gew. 0,88] und 15 Teilen Salpetersäure [spez. Gew. 1,2]) 10 Minuten bis 48 Stunden im Brütofen behandelt, ein bis zwei Minuten in destilliertem Wasser gewaschen und dann in 1—4 %ige wässerige Lösung von salzsaurem Phenylhydracin übertragen. Ist Phosphormolybdat gebildet worden, so wird es hier in 2—10 Minuten zu dunkelgrünem Molybdänoxyd reduziert.

Der Schnitt wird in absolutem Alkohol entwässert, in Zedernholzöl aufgehellt, in Balsam eingeschlossen.

Nach Mc Callum kann man auch anorganisch und organisch gebundene Phosphate unterscheiden.

Jod wird von Justus nach einer Methode dargestellt, bei welcher zunächst das Jod durch Chromsäure aus seiner Verbindung mit Eiweiss gelöst und durch Einlegen in Silbernitratlösung Jodsilber erzeugt wird. Gleichzeitig sich mitbildendes Silberchlorid wird mittels Natriumchlorid entfernt. Durch Übertragen in Quecksilber wird das Jodsilber in Jodquecksilber übergeführt, wodurch es deutlichere Färbung (rot) annimmt. Uns ist diese Methode nicht gelungen.

Kalium wird durch seine orangerot gefärbte Verbindung mit Kobalt nach der folgenden Methode von Mc Callum nachgewiesen:

1. Frische Stückchen oder Gefriermikrotomschnitte von frischem Material werden für 20 Minuten in folgende Mischung eingelegt:

Kobaltnitrat 20 gr,
Natriumnitrat 35 gr,
Eisessig 10 ccm,
destilliertes Wasser 65 ccm.

Nach einigen Stunden filtrieren und mit destilliertem Wasser auf 100 ccm auffüllen.

2. Abwaschen in eiskaltem Wasser, bis keine Farbwolken mehr abgehen.

3. Einbetten und untersuchen in einem Gemisch zu gleichen Teilen von Glyzerin und gesättigter Schwefelammoniumlösung.

Harnsäure und Purinkörper werden von ammoniakalischem Silber schwarz dargestellt nach folgender Methode von Courmont et André.

1. Härten in absolutem Alkohol, Einbetten in Paraffin, Schneiden.

2. Einlegen der Schnitte in 1 %ige Ammoniaklösung oder in sehr schwache unterschwefligsaure Natriumlösung.

3. Übertragen in 1 %ige Argentum nitricum-Lösung.
4. Abspülen in destilliertem Wasser.
5. Einlegen in einen photographischen Entwickler (Hydrochinon).
6. Auswaschen in destilliertem Wasser.
7. Eventl. Nachfärben mit Hämatoxylin und eventl. Eosin.
8. Entwässern in absolutem Alkohol.
9. Xylol. Balsam.

Die Harnsäure und ihre Derivate stellen sich als schwarze Körnchen dar, doch scheint uns diese Methode, welche nach Angabe ihrer Beschreiber für verschiedene Tiere und den Menschen verschieden ausgeführt werden soll, keineswegs zuverlässig.

L. Nekrose (lokaler Tod).

Das für die Nekrose charakteristische ist die Unmöglichkeit Kerne zu färben. Es genügt zuweilen schon frisch zu untersuchen, indem man Abstrichpräparate oder Zupfpräparate macht. Insbesondere klärt diese Untersuchung im Zweifelfalle oft schon darüber auf, ob Nekrose oder Eiter (Eiterkörperchen, polynucleäre Leukocyten) vorliegt. Zusatz einer Kernfarbe lässt in dem nekrotischen Gewebe Kerne nicht erkennen.

In der Regel muss gehärtet und dann gefärbt werden. Besondere Härtungsflüssigkeiten und besondere Färbungen sind nicht nötig; es genügt eine sichere Kern-Plasmafärbung, im allgemeinen am besten die Hämatoxylin-van Gieson färbung. Da die Gewebe sehr weich sind und leicht ausfallen ist Einbettung vorzuziehen; entweder lassen sich gar keine Kerne mehr darstellen, oder dieselben sind bei beginnender Nekrose ganz schlecht gefärbt, oder aber es ist noch das Stadium der Karyorrhexis nachzuweisen, d. h. es finden sich die bei der Auflösung der Kerne gebildeten, zerfallenen, meist sehr intensiv gefärbten Kernbröckel. Oft färbt sich auch das ganze Gewebe diffus, besonders mit sauren Anilinfarbstoffen. Auch das Protoplasma zeigt Veränderungen, Verklumpungen oder gänzliche Auflösung der Altmannschen Granula, und die Zellmassen zerfallen zuletzt in schollige, homogene oder körnige Massen. Trotzdem kann noch eine Art Struktur erhalten bleiben, vor allem im Bindegewebe, wenn dies auch kernlos, bei van Gieson färbung rot tingiert erscheint.

Vor einer Verwechslung nekrotischer Bezirke mit Fibrin schützt die Weigertsche Fibrinmethode, welche sich an nekrotischen Teilen nicht erzielen lässt, doch können auch solche Fibrin enthalten, z. B. die Lebernekrosen bei Eklampsie oder die Nekrobiose bei der tuberkulösen Verkäsung. Ein vollständiger körniger Detritus entspricht auch nekrotischen Vorgängen. Oft finden sich im noch lebenden Gewebe am Rand der Nekrose, so bei Infarkten oder tuberkulöser Verkäsung fetthaltige (ferner glykogenhaltige) Zellen, sodass die spezifischen Fettreaktionen – Scharlach R-Färbung — (und eventl. Reaktionen auf

Glykogen) wichtig sind. Da bei der Kernauflösung Stoffe frei werden, die zu Myelinfiguren Veranlassung geben, und sich diese mit Neutralrot rot färben (s. S. 158), ist auch diese Reaktion als Zeichen der Nekrose anzusehen (E. Albrecht).

Desgleichen lagert sich in nekrotischen Geweben oft Kalk ab, welcher sich meist durch seine intensiv dunkle Färbung mit Hämatoxylin zu erkennen gibt und eventl. spezifische Reaktionen angezeigt erscheinen lässt.

Da ätiologisch Bakterien in Frage kommen können, ist oft auf solche zu färben, z. B. bei Gangrän auf Fäulnisbakterien.

Des weiteren können sich Kristalle von Leucin und Tyrosin, sowie von Ammoniak-Magnesium-Phosphat als Zersetzungsprodukte finden.

Da weiterhin Nekrosen oft Folgen von Zirkulationsstörungen sind (z. B. Infarkte als Folge von Gefässembolien), so muss auf die Gefässe geachtet werden. Auch Nervenfärbungen kommen, da von den Veränderungen der Nerven Nekrosen abhängen können, in Betracht.

Es sei noch daran erinnert, dass eine Unfärbbarkeit der Kerne auch durch postmortale Fäulnis bedingt sein kann; dann findet man oft die Kerne hochorganisierter Epithelien nicht mehr oder schlecht färbbar, hingegen diejenigen der Bindegewebs- und Blut-Zellen noch darstellbar. Das ganze Verhalten der Gewebe lässt solche postmortalen Veränderungen oft von im Leben vor sich gegangenen Nekrosen unterscheiden, oft ist dies aber auch mikroskopisch nicht möglich.

Die Fettgewebs- und Pankreasnekrosen und ihre Methoden s. S. 285.

Kapitel XIII.

Methoden für lokale Zirkulationsstörungen, Progressive Prozesse, Entzündungen und Geschwülste.

Unter den lokalen Zirkulationsstörungen lassen sich Hyperämien meist schon makroskopisch leicht erkennen.

Zur mikroskopischen Untersuchung muss man zumeist härten und entweder auf dem Gefriermikrotom schneiden oder einbetten.

Es eignen sich die gewöhnlichen Fixationsmittel, vor allem Formol, Orthsches Gemisch und Sublimat.

Man wendet dann auch die gewöhnlichen Färbemethoden an, vor allem diejenigen, welche, wie das Eosin oder die Mallorysche 3 Farbenmethode, rote Blutkörperchen besonders färben, oder man nimmt nur eine einfache Kernfärbung vor, wobei dann das Blut in seiner Eigenfarbe stark hervortritt.

Um Blutungen nachzuweisen, genügen oft schon Zupfpräparate, oder aber man fixiert und bettet ein.

Bei ausgedehnten Blutmassen ist Formolhärtung und Einbettung in Celloidin vorzuziehen, da bei Sublimathärtung und Paraffineinbettung das an sich schon spröde Blutgerinnsel sich oft sehr schlecht schneiden lässt.

Man färbt wie oben angegeben auf rote Blutkörperchen, oder aber es handelt sich um aus Blutungen stammendes Pigment, bei welchen dann einmal die Untersuchung der Kristalle (frische Präparate), sodann Eisenreaktionen am wichtigsten sind.

Für Thromben gilt das eben Gesagte. Ausser den gebräuchlichen Färbemethoden kommen hier besonders häufig die Methoden für Fibrinfärbungen in Betracht.

Für Embolien gilt natürlich dasselbe wie für die Thromben. Bei Fettembolie kommt das schon Seite 148 Gesagte in Betracht, bei Bakterienembolie bestimmte Bakterienfärbungen. Bei Infarkten handelt es sich um Nekrosen, und somit muss die Kernlosigkeit charakteristisch geformter Gebiete nachgewiesen werden. An ihrem Rand ist oft sehr viel Fett vorhanden, welches mit den spezifischen Methoden nachgewiesen wird.

Wegen aller Details s. unter Nekrose S. 188.

Entzündete Gewebe kann man oft schon am frischen Zupf- oder Abstrich-Präparat, besonders wenn man eine Kernfärbung zu Hilfe nimmt, mit Erfolg untersuchen.

Auch viele Degenerationsformen kann man hierbei schon feststellen. Für gewöhnlich kommt Härtung vor allem in Formol und Schneiden auf dem Gefriermikrotom, sowie Fixation auch in anderen Flüssigkeiten, so Orthschem Gemisch oder Flemmingscher Lösung und Einbettung in Zelloidin oder Paraffin in Betracht.

Handelt es sich hauptsächlich um den Nachweis entzündungserregender Bakterien, so härtet man gut von vorneherein in Alkohol.

Zu allgemeinen Übersichtsbildern ist hier die van Gieson-Methode mit Eisenhämatoxylinvorfärbung ebenfalls zu empfehlen.

Für besondere Zellen ist es wichtig die Granula der Zellen nach den unter „Blut" (Kap. XV) angegebenen Methoden darzustellen, so mittels der Triacidfärbung oder mittels den an Schnittpräparaten vorzunehmenden Modifikationen der Romanowsky-Färbung.

Auf Bakterien, welche ja bei der Entzündung eine grosse Rolle spielen, wird mit den im Kapitel Bakteriologie angegebenen Methoden untersucht.

Neben den Schnittpräparaten ist es oft nützlich Ausstrichpräparate zu machen und auf Bakterien, sowie Zellen nach den im Kapitel Bakteriologie und Blut angegebenen Methoden zu untersuchen.

Die Veränderungen der regressiven Methoden, Fett etc. sind nach den im vorigen Kapitel angegebenen Methoden wahrzunehmen.

Bei progressiven Prozessen spielen oft Mitosen eine grosse Rolle, sodass Fixation in Flemmingschem Gemisch oder in Zenkerscher Flüssigkeit (s. Kapitel X) in solchen Fällen zu empfehlen ist.

Die Methoden für Mastzellen, sowie für die bei vielen Entzündungen wichtigen Plasmazellen sind schon Seite 124 besprochen.

Bei Bindegewebswucherungen, wie sie sich in chronischen Entzündungen einstellen, genügt in der Regel die van Gieson-Methode. Für spezielle Fälle kommen die Methoden für Bindegewebe (s. S. 126) in Betracht.

Elastikafärbungen sind oft, sowohl zur allgemeinen Orientierung, wie auch zur Darstellung der speziellen Verhältnisse der Elastikamassen von Wichtigkeit.

Zur Klarmachung der einzelnen Prozesse, welche sich bei der Entzündung abspielen, insbesondere der Emigration der weissen Blutkörperchen, dienen die experimentellen Untersuchungen am lebenden Gewebe, so vor allem am Mesenterium oder an der Zunge des Frosches, auf deren Einzelheiten hier nicht eingegangen werden kann.

Hingegen müssen hier noch die bei Blutungen, Thromben etc. wie bei den Entzündungen im allgemeinen und besonders den Pneumonien, diphtherischen Entzündungen, Entzündungen der serösen Häute etc. so sehr wichtigen Färbungen auf

Fibrin

ihren Platz finden.

Fibrin wird mit den sauren Anilinfarben (Eosin, Pikrinsäure etc.) in der betreffenden Farbe, mit der van Gieson-Lösung gelb, mit der Malloryschen Dreifarbenmethode rot gefärbt, nach Härtung in Flemmingscher Lösung mit Safranin hellrot.

Speziell zur Fibrinfärbung dienen folgende mehr spezifische Methoden:

1. Weigertsche Fibrinmethode.

Bei dieser färben sich ausser dem Fibrin Bakterien, vor allem Kokken, dunkelblau, da die Methode als Fibrinmethode zwar eine absolut originelle darstellt, als Bakterienmethode aber als eine Modifikation der Gramschen Methode aufzufassen ist; also färben sich auch hier die sogenannten grambeständigen Bakterien (s. S. 207).

Das Wesentliche der Methode ist, dass nach Färbung mit Methylviolett jodiert und die Differenzierung und Entwässerung in einem Gemisch von Anilinöl und Xylol vorgenommen wird. Hierin, d. h. in der Vermeidung des absoluten Alkohols liegt das Charakteristische der Methode.

Für Bakterien ist diese Differenzierungsart die zärtere; bei Färbung auf Fibrin ist sie unbedingt angezeigt, da Alkohol (der Gramschen Methode entsprechend) jede Spur Fibrin sofort entfärbt.

Herstellung der Farblösung. Ursprünglich lautete die Vorschrift folgendermaßen:

Anilinöl 10 ccm werden mit
Wasser 100 ccm

ordentlich geschüttelt und durch ein feuchtes Filter filtriert. Zu 90 ccm dieses so gewonnenen Anilinwassers werden 11 ccm gesättigte absolut alkoholische Lösung von Methylviolett zugesetzt und filtriert. Diese Lösung hält sich 2—3 Wochen. (Zenker setzt das Violett dem Anilinwasser in Substanz zu.)

Um die Unannehmlichkeiten der häufigen Bereitung der Lösung zu umgehen, hat Weigert später zwei Stammlösungen eingeführt, welche Jahre halten und welche einfach gemischt werden, wonach die zur Methode brauchbare Mischung sich etwa 10—14 Tage brauchbar erweist.

Stammlösung I.
Absoluter Alkohol 33 ccm,
Anilinöl 9 ccm,
Methylviolett im Überschuss.

Stammlösung II.
Gesättigte wässerige Lösung von Methylviolett.

Färbungsflüssigkeit: Stammlösung I. 3 ccm,
Stammlösung II. 27 ccm
werden gemischt.

Jodlösung:

Zunächst gebrauchte Weigert die gewöhnliche Lugolsche Lösung (Jod 1, Jodkalium 2, Wasser 300), später empfahl er folgende Lösung:

Gesättigte Lösung von Jod in 5%iger wässeriger Jodkaliumlösung d. h. also

Jodkalium 5 gr,
Wasser 100 ccm,
Jod im Überschuss,
nach einiger Zeit filtrieren.

Differenzierungsflüssigkeit:

Die Anilinöl-Xylolmischung bestand ursprünglich aus:

Anilinöl 2 Teile,
Xylol 1 Teil.

Später wurde empfohlen:

Anilinöl 1 Teil,
Xylol 1 Teil.

Bei der Benekeschen Modifikation für Epithelfasern etc. werden
Xylol 3 Teile,
Anilinöl 2 Teile gebraucht.

Bei den mit der Methode verknüpften Manipulationen müssen die Schnitte, um nicht zu stark zu schrumpfen, auf dem Objektträger befestigt werden. Paraffinschnitte werden in der gewöhnlichen Weise aufgezogen. Celloidin- oder Gefrierschnitte trocknet man einfach auf einem frisch gereinigten Objektträger durch Anpressen mit Filtrierpapier. Die Schnitte halten in der Regel; sollte das nicht der Fall sein, so klebt man sie nach einer der auf S. 74 ff wiedergegebenen Methoden auf.

Die Weigertsche Methode gelingt nach Alkoholhärtung etc.; nur nach Chrombeizung (Fixierung in Müllerscher Flüssigkeit, Orthschem Gemisch etc.), und — wenn auch selten — nach Formolfixierung färben sich Fibrin und Bakterien nicht gut.

Dann gelingt die Methode ebenfalls ausgezeichnet, wenn man die Schnitte zunächst wie unten angegeben in hypermangansaurem Kalium oxydiert und sodann in Oxalsäure reduziert. So wird die Methode von ganz allgemeiner Anwendungsmöglichkeit.

Eine Kernfärbung nimmt man am besten mit Lithionkarmin vorher vor. Für die Methode ist dieser Schritt natürlich nicht notwendig.

Das Verfahren ist folgendes:

1. Härten in absolutem Alkohol, Formol, Müllerscher Flüssigkeit, Orthschem Gemisch oder Sublimat.

Auswaschen, Entwässern in steigendem Alkohol, Einbetten, Schneiden, oder Gefriermikrotomschnitte.

2. Übertragen in 1 %ige wässerige Lösung von Kalium hypermanganicum, verdünnt mit 2 Volumen Wasser 10 Minuten. (Oxydation.)

3. Gründliches Wässern.

4. Übertragen in 5 %ige wässerige Lösung von Oxalsäure mehrere Stunden. (Reduktion).

2, 3, 4 nur für die oben erwähnten besonderen Fälle, vor allem Chromsäurehärtung.

5. Wässern.

6. Färben in Lithionkarmin eine bis mehrere Minuten.

7 Differenzieren in Salzsäurealkohol mehrere Stunden.

8. Gründliches Wässern.

Diese Kernfärbung ist natürlich für die Methode selbst nicht nötig.

Noch nicht aufgeklebte Schnitte werden nunmehr auf den Objektträger aufgezogen und mit Filtrierpapier angepresst und getrocknet.

9. bezw. 1. Man bringt auf den am Objektträger befestigten Schnitt einige Tropfen obiger Methylviolettlösung etwa 15 Sekunden und giesst sie ab.

10. bezw. 2. Trocknen des Schnittes am Objektträger mit Filtrierpapier.

11. bezw. 3. Auf den Schnitt am Objektträger werden einige Tropfen obiger Jodlösung aufgeträufelt; man lässt sie 15—20 Sekunden einwirken und giesst dann ab.

12. bezw. 4. Trocknen des Schnittes auf dem Objektträger mit Filtrierpapier.

13. bezw. 5. Man differenziert indem man auf den auf dem Objektträger liegenden Schnitt Anilinxylol aufträufelt.

Die Farbe geht in dicken blauen Wolken ab. Die Grundfarbe wird wieder rot (bezw. wenn nicht in Karmin vorgefärbt, hell). Man kontrolliert am besten unter dem Mikroskop, wann das Fibrin gut blau gefärbt, der Grund entfärbt ist und bricht dann die Differenzierung ab.

14. bezw. 6. Man giesst das Anilinxylol ab und bringt Xylol auf den Schnitt, sodann trocknet man mit Filtrierpapier, bringt wieder Xylol auf und wiederholt dies dreimal.

Einmal muss der Schnitt ganz hell auf schwarzem Grund d. h. wasserfrei sein, und ferner muss jede Spur Anilinöl durch das Xylol ausgewaschen sein, sonst blassen die Schnitte schnell ab.

15. bezw. 7. Einschliessen in Kanadabalsam.

Das Fibrin ist leuchtend blau, ebenso wenn auch etwas dunkler sind grampositive Bakterien gefärbt; auch verklumpte Altmannsche Granula (Lubarsch), Schleim und Horn färben sich mit. Kerne eventl. rot gegengefärbt.

Die obigen kürzeren Zeiten zur Färbung, Entfärbung etc. entsprechen Weigerts späterem Verfahren.

Es ist besser die Differenzierung nicht zu weit zu treiben, sind dann auch noch einige Kerne (wenn nicht mit Karmin vorgefärbt wurde) besonders das Chromatingerüst und etwas Bindegewebe, letzteres mehr hellblau, mitgefärbt, so macht es doch in der Regel keine Schwierigkeiten diese Dinge vom Fibrin zu unterscheiden, und das Fibrin selbst, auch jeder einzelne Faden, sowie die Bakterien sind ganz sicher und tiefblau gefärbt.

Differenziert man dagegen zu stark, wie es vielfach Usus ist, so gewinnt man zwar eine isolierte Färbung von Fibrin und Bakterien und somit sehr elegante Bilder, aber es besteht dann die Gefahr, dass feinere Fibrinfäden oder auch einzelne Bakterien schon wieder entfärbt sind. Zudem sind sie dann nicht so intensiv blau gefärbt.

Mäßige Differenzierung ist also entschieden vorzuziehen.

Zur Darstellung der Methylviolettlösung sind noch eine grössere Reihe anderer Vorschriften im Gebrauch. Von diesen sei zunächst die folgende, welche von Paltauf angegeben wurde, erwähnt:

Anilinöl (Merck) 3—5 ccm,
absoluter Alkohol 7 ccm.
destilliertes Wasser 90 ccm,

werden gründlich durchgeschüttelt und durch ein gut befeuchtetes Filter filtriert.

Hierin gelöst werden 2 gr fein verriebenes Gentiana- oder Methylviolett. Nach 24 Stunden wird filtriert.

In gut gereinigten Flaschen soll sich die Lösung 4—6 Wochen halten. An ihrer Oberfläche soll sich ein metallischer Glanz zeigen.

Man färbt hierin 3 Minuten.

Einen besonderen Vorteil auch quoad Haltbarkeit hat diese Herstellung der Farblösung besonders vor der Weigertschen Methode mit Stammlösungen kaum.

Eine sehr haltbare und sofort brauchbare Lösung wird von Sharnowsky empfohlen.

Er benutzt statt des flüssigen Anilinöls, das salzsaure Salz desselben und zwar folgendermafsen:

Salzsaures Anilin (Kahlbaum) 3,5 gr werden in 90 ccm Wasser gelöst, 10 ccm absoluter Alkohol zugesetzt, auf 60° erwärmt und allmählich unter ständigem Umrühren 1 gr Gentianaviolett zugefügt, noch 10 Minuten über kleiner Flamme erhitzt und filtriert.

Zuweilen muss man, um eine häufig eintretende leicht saure Reaktion des Anilinsalzes zu neutralisieren, ein paar Tropfen Anilin zusetzen.

Bei allen diesen Lösungen, der Weigertschen wie ihrer Modifikationen kann man Methylviolett oder Gentianaviolett pro misque gebrauchen, jedoch ist das Methylviolett als das reinere Salz vorzuziehen.

2. Kockelsche Fibrinmethode.

Sie stellt eine Modifikation der Weigertschen Markscheidenmethode dar.

1. Fixierung beliebig, Einbetten besonders in Paraffin, Schneiden dünner Schnitte, Entparaffinieren, Übertragen in Alkohol, Wasser.

2. Beizen der Schnitte in 1%iger Chromsäurelösung 5—10 Minuten.

3. Wässern bis der Schnitt blass, aber doch noch ausgesprochen gelb gefärbt ist, 5—20 Sekunden.

4. Färben in dem älteren zur Markscheidenfärbung dienenden Weigertschen Hämatoxylin, 15—20 Minuten.

Dasselbe hat folgende Zusammensetzung:

Lösung I: Hämatoxylin 1 gr,
absoluter Alkohol 10 ccm,
Wasser 90 ccm.

Lösung II: 1 ccm gesättigte wässerige Lösung von Lithium carbonicum.

Lösung I und II werden gemischt.

5. Wässern.

6. Einlegen des Schnittes in 10%ige wässerige Alaunlöung, bis der Schnitt dunkelblau erscheint.

7. Wässern.

8. Differenzieren in Weigerts Borrax-Ferricyankalium-Lösung (s. Markscheidenmethode); dieselbe hat folgende Zusammensetzung:

Borax 2 gr,
Ferricyankalium 2,5 gr,
Wasser 100 ccm.

Diese Flüssigkeit wird mit 3 Teilen Wasser verdünnt.

Man differenziert in ihr 3—6 Minuten, bis, am besten unter mikroskopischer Kontrolle, das Fibrin ganz dunkel, der Untergrund gelbbraun gefärbt ist.

9. Wässern 3—5 Minuten.

10. Einlegen des Schnittes in gesättigte wässerige Alaunlösung $^1/_4$—1 Stunde.

11. Wässern.

12. Eventl. Nachfärben der Kerne mit Boraxkarmin oder dünner Safraninlösung.

13. Entwässern in absolutem Alkohol.

14. Xylol. Balsam.

Fibrin dunkelbraun bis dunkelblau gefärbt, Grundfarbe hellgrau oder hellbraun, Kerne eventl. rot.

Manchmal, besonders nach Chromsäurehärtung färben sich die roten Blutkörperchen, Muskelfasern, Horn, hyaline Massen, sowie eventuell elastische Fasern und Bakterien braun mit.

Kockel legt, um dies hintanzuhalten, die Schnitte vor der Färbung 5 Minuten in 5%ige wässerige Essigsäure.

Es ist uns nicht gelungen, mit dieser kurzen Essigsäurebehandlung das Mitfärben der roten Blutkörperchen zu verhindern. Längere Einwirkung der Essigsäure ist aber der Fibrinfärbung schädlich.

Des weiteren haben wir das Fibrin an etwas dickeren Schnitten besser als an ganz dünnen gefärbt bekommen und ziehen es vor, die Kernfärbung nicht vorzunehmen. Dann ist das Fibrin deutlicher gefärbt.

Dickere Schnitte muss man häufig in der Differenzierungsflüssigkeit etwas länger liegen lassen.

Die Differenzierung bei dieser Methode ist überhaupt nicht leicht.

Die Methode, als Ganzes beurteilt, steht der Weigertschen Methode nach; sie ist komplizierter, und ihre Resultate sind weniger klar. Ihr Hauptvorteil auch an Chromsäure gehärteten Präparaten anwendbar zu sein, wird dadurch illusorisch, dass mit dem oben erwähnten kleinen Kunstgriff auch bei solchen die Weigertsche Fibrinmethode gut gelingt.

Beide Methoden geben gut haltbare Präparate.

Als Kontrolle der Weigertschen Färbung zur Feststellung, dass es sich wirklich um Fibrin handelt, kann die Kockelsche Methode in der Tat angenehm sein.

3. Schüninoffsche Methode.

1. Fixierung beliebig, am besten in Formol, Einbetten in Celloidin oder Paraffin.
2. Einlegen der Schnitte in 3%ige Lösung von Wasserstoffsuperoxyd 12—24 Stunden.
3. Direktes Übertragen der Schnitte für 15 bis 20 Minuten in folgende Hämatoxylinlösung:

Hämatoxylin 1,75 gr,
Wasser 200 ccm,
kristallisierte Karbolsäure 5 gr,
10%ige wässerige Lösung von Phosphorwolframsäure 10 ccm,

(diese Lösung ist die Mallorysche Hämatoxylinlösung mit Ersatz der Phosphormolybdänsäure durch Phosphorwolframsäure). Die Lösung muss 4—8 Wochen in der Sonne reifen und dunkelrot werden. Sie braucht nicht filtriert zu werden, wenn sie vollkommen durchsichtig und klar ist.

Während die Schnitte in dieser Lösung bleiben, (15—20 Minuten) geht eine Oxydation des Hämatoxylins infolge des an den Schnitten haftenden Wasserstoffsuperoxyds vor sich.

Die Farbe der Lösung wird dunkelviolett, dann braunrot und die Lösung vollkommen undurchsichtig.

4. Abspülen in Wasser.
5. Differenzieren in 5—10%iger Lösung von Phosphorwolframsäure 12—24 Stunden, (Glasnadeln benutzen). Meist ist die Differenzierung schon nach einer halben Stunde befriedigend.
6. Gründliches Wässern.
7. Entwässern in Alkohol.
8. Xylol. Balsam.

Das Fibrin ist tiefblau gefärbt; Zellkerne dunkelviolett, Plasma hellrötlich violett oder entfärbt, Bindegewebe ganz hell bläulich oder rötlich, desgleichen glatte Muskulatur, Horngewebe dunkelblau, rote Blutkörperchen hellblau, bezw. hellrosa. Die Körner der trüben Schwellung werden blau gefärbt.

Beizt man 48 Stunden im Wasserstoffsuperoxyd, so werden auch die Gallenkapillaren dargestellt.

4. Fraenkelsche Methode.

Diese ist eine Übertragung der Bestschen Glykogenmethode zum Zwecke der Fibrinfärbung.

Die Methode selbst, sowie die kleinen Modifikationen von Fraenkel s. S. 170.

Es färben sich also hierbei gleichzeitig Fibrin und Glykogen evtl. auch derbes Bindegewebe, Körner der Mastzellen, Protoplasma der Magendrüsen und (s. unter Knochensystem) ein Teil des Knochens.

Diese Dinge können einerseits mit dem Glykogen, andererseits mit dem Fibrin und diese untereinander nicht verwechselt werden.

5. Mallorysche Methode.

1. Fixierung beliebig (Formol nicht sehr gut), Einbetten in Celloidin oder Paraffin, Schneiden.

2. Übertragen der Schnitte auf dem Objektträger in 10 %ige wässerige Lösung von Eisenchlorid 3—5 Minuten.

3. Trocknen und Aufbringen einer frisch bereiteten 1 %igen wässerigen Hämatoxylinlösung auf den Schnitt. Die Lösung muss öfters frisch aufgetröpfelt werden. Nach 3—5 Minuten erscheint der Schnitt blauschwarz.

4. Wässern.

5. Differenzieren in $^1/_4$ %iger wässeriger Lösung von Eisenchlorid einige Minuten unter ständigem Hinundherbewegen der Schnitte bezw. des Objektträgers.

6. Wässern.

7. Entwässern in Alkohol.

8. Origanumöl. Balsam.

Fibrin graublau bis dunkelblau gefärbt, Kerne dunkelblau, Bindegewebe hellgelb. Bei Fixation in Zenkerscher Lösung erscheinen die roten Blutkörperchen auch dunkelblau was die Erkennung des Fibrins erschweren kann.

Die Methode ist zum schnellen Erkennen des Fibrins manchmal ganz geeignet, der Weigertschen Methode aber -- ebenso wie die andern angeführten — weit unterlegen.

6. K. Herxheimersche Methode.

1. Fixieren in Formol oder Alkohol. Einbetten, Schneiden.

2. Färben auf dem Objektträger mit 2 %iger wässeriger Alizarinlösung 20 Sekunden.

3. Aufträufeln einer 3,5 %igen wässerigen Uranylazetatlösung mit dem gleichen Volumen aqua dest. verdünnt, 1 Minute.

4. Wässern.

5. Entwässern in absol. Alkohol.

6. Xylol. Balsam.

Fibrin hellviolett, Bindegewebe dunkelviolett gefärbt.

Bei Untersuchungen tuberkulöser Massen und Organe wird in der Regel Härtung z. B. in Formol und Einbettung oder Schneiden auf dem Gefriermikrotom nötig sein.

Man färbt dann nach van Gieson mit Färbung der Kerne mittels Eisenhämatoxylin.

Des weiteren kommen Bindegewebsfibrillenmethoden, Färbungen auf Fibrin, oder Fettfärbungen, wenn auch selten, häufiger dagegen Schnittfärbungen auf Tuberkelbazillen in Betracht.

In zweifelhaften Fällen unterlasse man es nicht, kleine Gewebsstückchen oder Gefriermikrotomschnitte in Antiformin aufzulösen und dann nach Tuberkelbazillen zu suchen.

Auch bei syphilitischen Prozessen handelt es sich um Anwendung der allgemeinen Methoden. Sehr wichtig ist hier eine Färbung auf elastische Fasern, da vor allem die Endophlebitis relativ charakteristisch für luetische Prozesse ist.

Färbung auf Spirochäten (nach Levaditi) gelingt leicht bei kongenitaler Syphilis und häufig bei primären und sekundären Prozessen, wobei eine Färbung an Ausstrichpräparaten oft am wichtigsten ist (Burrisches Verfahren, Dunkelfeldbeleuchtung, Giemsa-Färbung). Bei tertiären Prozessen lassen sich die Spirochäten meist nicht nachweisen.

Auch bei der Untersuchung von Geschwülsten ist es oft sehr angezeigt, mit frischen Präparaten (Zupf- oder Quetschpräparaten) zu beginnen. Ist es doch hiernach zuweilen schon möglich, je nach der Form und dem Verhalten der Geschwulstzellen die Geschwulst selbst zu bestimmen.

Im allgemeinen aber kommt es nirgends mehr als gerade bei den Geschwülsten auf die Gesamtstruktur und somit auf grössere Übersichtsschnitte an.

Um solche zu erreichen, muss man natürlich härten, und hierzu eignen sich die meisten Fixierungsflüssigkeiten, wie Formol, Orthsches Gemisch, eventl. Sublimat, weniger Alkohol oder Flemmingsche Flüssigkeit.

Man schneidet, besonders nach Fixierung in Formol oder Orthschem Gemisch auf dem Gefriermikrotom, oder bettet in Celloidin oder Paraffin ein.

Gerade hier kommt es darauf an auch schon makroskopisch die für die Geschwulst charakteristischen Stellen zu wählen und zu schneiden; auch soll man eine grössere Reihe Stücke einlegen, da häufig erst nach der Untersuchung solcher das für die Geschwulst Charakteristische erkannt wird, weil diese sich an verschiedenen Stellen ganz verschieden verhalten kann. Die Wichtigkeit dieses Punktes geht z. B. aus Adenomen, welche nur an wenigen Stellen ihre karzinomatöse Struktur deutlich erkennen lassen und dergl. deutlich hervor.

Es ist darum gerade hier wichtig die Stücke gut zu orientieren, möglichst Stücke vom Rand der Geschwulst zu nehmen, sodass man gesundes und Geschwulstgewebe zusammen in den Schnitt bekommt und — was bei gewissen Schleimhautkarzinomen, so des Darmes oder Uterus, besonders wichtig ist — die Schnitte senkrecht auf die Schleimhaut anzulegen, sodass vollständige Übersicht gewährleistet wird.

Für eventuelle Degenerationszustände der Geschwulstzellen kommen die besprochenen Methoden für Fett, Glycogen etc. in Betracht.

Bei Muskelgeschwülsten gibt die van Gieson-Färbung besonders gute Bilder.

Bei Geschwülsten des Nervengewebes und der Glia kommen die spezifischen Nerven-Methoden zu ihrer Geltung.

Oft ist bei der Untersuchung von Geschwülsten eine Färbung auf elastische Fasern, welche die Orientierung sehr erleichtert, wichtig.

Um das bindegewebige Stroma der Geschwulst darzustellen, kommen die spezifischen Bindegewebsfärbungen, insbesondere die Bielschowsky sche, die Mallorysche, Hütersche und Ribbertsche in Betracht.

Besonders wichtig ist dieser Punkt in den seltenen, aber bedeutungsvollen Fällen, in welchen nur mit Hilfe der Fibrillenmethoden eine sichere Unterscheidung zwischen Karzinom und Sarkom getroffen werden kann.

Kernteilungsfiguren finden sich bekanntlich besonders häufig in den Geschwülsten und sprechen hier im allgemeinen für einen malignen Typus derselben, bezw. für schnelles Wachstum. Sie werden im allgemeinen bei gewöhnlichen Kern-Plasmafärbungen leicht aufgefunden, besonders an operativ entnommenem Material. Zu ihrer speziellen Darstellung dienen die Seite 114 besprochenen Methoden.

Bei den geschwulstartigen Wucherungen des lymphatischen und hämatopoetischen Gewebes sind auch gute allgemeine Übersichtsbilder, sowie häufig Bindegewebsfibrillenmethoden am wichtigsten. Daneben kommen hier die speziellen Färbungen auf Granula der Blutzellen in Betracht.

Besonders schwierig kann die Diagnosenstellung an kleinen zur Untersuchung eingesandten Gewebsbröckeln werden, so z. B. an kleinen kurettierten (ausgekratzten) Massen, zumal hierbei zumeist die Untersuchung sehr schnell ausgeführt werden soll. Kann man die Stücke auf dem Gefriermikrotom nach Formolhärtung schneiden, so wähle man dies, sonst bettet man mit den Schnellmethoden, besonders in Paraffin, ein.

Ganz kleine in Flüssigkeiten suspendierte Massen kann man sedimentieren oder zentrifugieren, besser letzteres, dann mit einer Fixierungsflüssigkeit z. B. Formol übergiessen, wieder zentrifugieren, die Flüssigkeit abgiessen, Alkohol aufgiessen u. s. w. bis man die Massen eingebettet hat und sie schneiden und färben kann.

Kapitel XIV.

Methoden zur Untersuchung auf Parasiten.

Wir behandeln hier nur die für den Menschen pathogenen Parasiten und teilen ein in:

A. Pflanzliche Parasiten.

a) Bakterien,

b) Trichomyceten, Hyphomyceten (Schimmelpilze), Blastomyceten (Sprosspilze, Hefepilze).

B. Tierische Parasiten.

a) Protozoen, Spirochäten,

b) Würmer und Arthropoden.

A. Pflanzliche Parasiten.

a) Bakterien.

Eine Untersuchung auf Bakterien wird vorgenommen:

I. Im frischen Präparat.

II. Im Deckglastrockenpräparat.

III. Im Schnittpräparat.

Hierzu kommen

IV. Methoden zur Darstellung bestimmter Bestandteile der Bakterien.

V. Färbungen für die einzelnen Bakterien.

I. Untersuchung im frischen Präparat.

Man untersucht eine bakterienhaltige Flüssigkeit in der einfachsten Weise, eventl. verdünnt mit Kochsalzlösung oder destilliertem Wasser, zwischen Objektträger und Deckgläschen.

Die Untersuchung auf die kleinen Bakterien muss in der Regel mit starker Vergrösserung bezw. mit Ölimmersion (und bei ungefärbten Objekten bei enger Blende) vorgenommen werden.

Um die Bakterien sicher als solche zu erkennen, kann man dem frischen Präparat 2%ige Kalilauge oder Essigsäure zusetzen, wobei zellige Elemente aufgehellt, kleine Eiweisskörnchen gelöst werden, während die Bakterien sich resistent erweisen, sodass man sie nunmehr mit nichts anderem mehr verwechseln kann.

In der gleichen Weise kann man sich vor Verwechslung mit etwaigen Fettröpfchen durch Zusatz von Äther, Chloroform oder absolutem Alkohol, welche das Fett lösen, schützen.

Die für die Bakterien charakteristische Form und Lagerung, besonders bei den Kokken, kann man meist schon im frischen Präparat erkennen, desgleichen Bewegungen, wobei man oft, um die Bakterien längere Zeit am Leben zu erhalten, auf einem heizbaren Objekttisch untersuchen muss.

Zur Darstellung der Bewegung der Bakterien ist die Seite 8 angegebene Dunkelfeldbeleuchtung sehr vorteilhaft, welche überhaupt die kleinsten Lebewesen sehr gut erkennen lässt, sodass sie sich auch besonders zum Aufsuchen der Spirochaete pallida eignet.

Ausserordentlich wichtig für die Bakterienuntersuchung, sei es von bakterienhaltiger Flüssigkeit, sei es von Bakterien, welche Kulturen entnommen sind, ist die Untersuchung im sogenannten hängenden Tropfen, im hohl geschliffenen Objektträger, wie sie Seite 21 beschrieben wurde.

Will man diese Untersuchung längere Zeit fortsetzen, so benutzt man als Flüssigkeitsmedium am besten sterilisierte Bouillon.

Eine Art vitaler Bakterienfärbung wurde zuerst von Plato für gonokokkenhaltigen Eiter empfohlen, sodann von Nakanishi-Pappenheim allgemein eingeführt (s. auch unter Blut):

Man bestreicht einen Objektträger, der gut gereinigt ist, mit einer gesättigten, warm gelösten wässerigen Methylenblaulösung (B. B. Höchst) und wäscht soweit wieder ab, dass das Glas nur einen ganz leichten Schimmer hellblauer Färbung behält.

Auf einen trockenen derartigen Objektträger wird das Deckgläschen mit dem auf Bakterien zu untersuchenden Tropfen aufgelegt.

Die Bakterien färben sich dann mit dem blauen Farbstoff, und man kann unter dem Mikroskop verfolgen, wie die einzelnen Strukturelemente der Bakterien sich nach einander färben, sodass sehr deutliche Bilder resultieren.

Statt des Methylenblaus hatte Plato für die Gonokokken eine Lösung von Neutralrot in Kochsalzlösung eingeführt.

II. Untersuchung im Deckglastrockenpräparat.

Man stellt dasselbe her, indem man bakterienhaltige Flüssigkeit mit einer ausgeglühten Platinnadel auf Objektträger oder Deckgläser überträgt und hier fein zu einer dünnen Schicht ausstreicht.

Oder aber man bringt einen Tropfen auf ein Deckglas, legt ein zweites darauf und zieht ab, wie es im Kapitel Blut genauer beschrieben werden soll.

Man lässt nun das Deckglas bezw. den Objektträger mit der beschickten Seite nach oben liegen, bis die Schicht vollständig trocken ist und fixiert dann am einfachsten, indem man das beschickte Deckgläschen bezw. den Objektträger mit der Hand dreimal durch eine Gasflamme zieht und zwar wird angegeben so, dass die Hand in gleichmäßiger Bewegung in einer Sekunde einen Kreis von etwa 1 Fuss Durchmesser zieht.

Seltener wird statt dieser einfachen Hitzefixation eine Fixation durch Einlegen in Alkohol abs., oder absoluten Alkohol und Äther zu gleichen Teilen gemischt, auf 10 Minuten vorgenommen.

Es sei noch erwähnt, dass die zu den Ausstrichen benutzten Gläser stets gut gereinigt sein müssen; am besten benutzt man, um Täuschungen zu entgehen, frische, nicht gebrauchte Gläser.

Sind in der zu untersuchenden Flüssigkeit nur wenige Bakterien zu erwarten, so zentrifugiert man am besten und macht Ausstriche von dem Sediment.

Färbung von Deckglastrockenpräparaten auf Bakterien.

Sollen hier auch nur im wesentlichen die Methoden beschrieben werden, wie sie für Deckglastrockenpräparate üblich sind, so sei doch bemerkt, dass Zusatz einer der zu nennenden Farbflüssigkeiten auch zu frischen feuchten Präparaten die Bakterien oft deutlicher hervortreten lässt.

Ferner seien folgende allgemeine Bemerkungen vorausgeschickt.

Für die bei den Färbungen nötigen Manipulationen ist es am besten, die Deckgläschen mittels der sogenannten Cornetschen Pinzette festzuhalten (entsprechende Pinzetten für Objektträger sind von Abel konstruiert).

Man färbt am besten, indem man die Flüssigkeit auf das in der Cornetschen Pinzette wagrecht liegende Deckgläschen aufbringt. Man kann dann auch mittels der Pinzette besonders leicht über der Flamme erwärmen.

In anderen Fällen lässt man das Deckgläschen auf dem mit Farbflüssigkeit angefüllten Schälchen schwimmen, am besten, indem man das Deckgläschen mit der beschickten Seite nach unten in ein Uhrschälchen oder Blockschälchen legt und mit der Farblösung mittels der Pipette unterschichtet.

In der Regel muss nach der Färbung abgewaschen werden.

Zum Trocknen benutzt man sodann Filtrierpapier, oder man lässt an der Luft, eventl. unter Erwärmen trocknen.

Eine Behandlung mit Xylol ist dann überflüssig: vielmehr kann man das Deckgläschen mit Kanadabalsam sofort auf dem Objektträger befestigen. Als Kanadabalsam ist der neutrale, in Xylol gelöste zu empfehlen.

Sind Ausstriche auf Objektträger angelegt worden, so kann man dieselben nach dem Trocknen (mittelst Filtrierpapiers) direkt untersuchen, ohne dass man ein Deckglas benötigt. Man kann dann das für die Immersion nötige Öl direkt auf den gefärbten Objektträger aufbringen.

Zur Färbung der Bakterien dienen die Anilinfarben und zwar die basischen, welche gleichzeitig Bakterienleiber und Zellkerne färben; dies ist bei allen basischen Farbstoffen der Fall, ausser beim Methylgrün, welches lediglich die Zellkerne färberisch darstellt.

Von der theoretisch anwendbaren grossen Zahl basischer Farbstoffe kommen in erster Linie folgende in Betracht:

1. Blau färbend: Methylenblau.
2. Rot färbend: Fuchsin.
3. Violett färbend: Methylviolett (Gentianaviolett), Thionin.
4. Braun färbend: Bismarckbraun (Vesuvin).

Man benutzt die Farben, um die Färbungen haltbarer zu machen, am besten in folgender Weise:

Man stellt sich gesättigte Lösungen des Farbstoffes in absolutem Alkohol als Stammlösung her. Zum Gebrauch bringt man soviel der Stammlösung in destilliertes Wasser, dass eine hell gefärbte Lösung resultiert, d. h. eine Lösung von 1—1½% des Farbstoffes.

Statt dieser einfachen alkoholisch-wässerigen Lösungen werden stärkere Färbungen bei Verwendung von Beizen erzielt, welche, den Farblösungen zugesetzt, simultan mit ihnen angewandt werden.

Als solche kommen hauptsächlich in Betracht:

1. Zusatz von Kalilauge, besonders angewandt von Koch und sodann von Löffler in dem sogenannten

Löfflerschen Methylenblau. Die Vorschrift für dieses lautet:

Konzentrierte alkoholische Methylenblaulösung 30 ccm,
0,01%ige Kalilauge 100 ccm.

Die Lösung hält sich gut und färbt in der Regel in 2 Minuten intensiv.

Sie stellt eine ausgezeichnete Universalmethode zur Färbung von Bakterien dar.

2. Zusatz von Anilinwasser, besonders verwandt als Anilinwasser-Methyl-(Gentiana-)violett. Das Anilinwasser wird wie mehrfach beschrieben hergestellt, indem man 10 ccm Anilinöl mit 100 ccm Wasser gut durchschüttelt und nach einigem Stehen durch ein gut angefeuchtetes Filter filtriert. Hierzu werden 11 ccm der konzentrierten alkoholischen Lösung des Farbstoffes zugesetzt.

Die Lösung, die man am besten vor dem Gebrauch filtriert, hält sich in der Regel nur etwa 1 Woche.

3. Zusatz von 5%igem Karbolwasser, besonders benutzt als Karbolfuchsin von folgender Zusammensetzung:

Fuchsin 1 gr,
Alkohol abs. 10 ccm,
5%iges Karbolwasser 100 ccm.

(Genaueres siehe unter Tuberkelbazillen).

Eine entsprechende Farbe wird auch mit Methylenblau (1,5 gr) hergestellt (nach Kühne).

Zu erwähnen ist noch das Karbol-Thionin nach Nicolle:
Gesättigte Lösung von Thionin in 50%igem Alkohol 10 ccm,
1%iges Karbolwasser 100 ccm.
(Färben $^1/_2$—1 Minute).

Da diese Farblösungen ausserordentlich kräftig färben, muss oft eine Differenzierung vorgenommen werden.

Als Differenzierungsmittel kommen in Betracht:

a) Starker Alkohol.

b) Ganz dünne ($^1/_2$—1%ige) Essigsäure.

c) Anilinöl-Xylol in verschiedenen quantitativen Mischungen, seltener reines Anilinöl.

d) Jod-Jodkaliumlösung 1—2—300.

e) Mineralsäuren mit Wasser oder Alkohol verdünnt, besonders der allgemein übliche Salzsäurealkohol, event. verdünnt.

f) Manche Salzlösungen, welche die Kerne entfärben und somit die Bakterien isoliert gefärbt lassen, besonders konzentrierte wässerige und mit Wasser verdünnte Lösung von kohlensaurem Kalium (vor allem nach Methylenblaufärbung).

g) Einige saure Anilinfarben, wie Tropäolin oder Fluorescein, Eosin, welche, besonders dem Alkohol zugesetzt, dessen Wirkung verstärken.

Es sei noch bemerkt, dass diese Differenzierungsmittel stets gründlich ausgewaschen werden müssen, bevor man trocknet und in Kanadabalsam einschliesst.

Anilinöl oder Anilinöl-Xylol muss mit Xylol gründlich ausgewaschen werden, sonst würde ebenfalls eine Nachentfärbung eintreten.

Des weiteren kommen als Färbemethoden in Betracht:

4. Die Färbung mit polychromem Methylenblau nach Unna (s. Seite 124).

5. die Giemsafärbung (s. unter Blut)

6. die Methylgrün-Pyroninmethode (s. S. 125)

7. die Neue Methylenblau-Methode von Löffler (besonders für schwer färbbare Bakterien).

1. Färben unter leichtem Erwärmen 1 Minute in folgender Lösung:
   Borax 2,5 gr,
   Methylenblau 1 gr,
   Aqua dest. 100 ccm,
   Polychrom. Methylenblau (Grübler) 25 ccm,
   0,05 % Bromeosin B. extra oder extra A. G. (Höchst) gelöst in Aqua dest. 125 ccm.
2. Eintauchen in:
   Konzentr. wässerige Lösung von Tropäolin 00 5 ccm,
   Eisessig 0,5 ccm,
   Wasser 100 ccm.
3. Wässern, Trocknen etc.

Man kann die Bromeosinlösung wie die Tropäolinlösung auch auf das 10fache verdünnen.

8. Von besonderer Wichtigkeit ist die Gramsche Methode, da es mit ihr gelingt zwei grosse Gruppen von Bakterien aufzustellen:

Einmal diejenige der nach Gram färbbaren Bakterien, und sodann diejenige, der Bakterien, welche sich beim Gramschen Verfahren differenzieren, also ungefärbt erscheinen.

Die Methode beruht darauf, dass zunächst mit Methylviolett gefärbt wird, und sodann ein eigenartiges Differenzierungsverfahren angewandt wird, wodurch eben die oben genannte Unterscheidung in die Erscheinung tritt.

Gramsche Färbung.

1. Färben der fixierten Ausstrichpräparate 3—5 Minuten in Anilinwasser-Methyl-(Gentiana-)violett.

2. Abgiessen der Farblösung und Aufgiessen der Jodjodkaliumlösung (1—2—300) 1—2 Minuten. Hierbei werden die Präparate dunkelbraunschwarz.

3. Abgiessen der Jodlösung und (ohne in Wasser zu waschen) Differenzieren in absolutem Alkohol, solange bis das Präparat fast farblos, hellgrau erscheint.

4. Trocknen und Einschliessen in Kanadabalsam.

Die grambeständigen Bakterien sind dunkelblau dargestellt, zellige Bestandteile erscheinen gelb, Kerne blau, desgleichen Mastzellengranula (Achtung vor Verwechslung mit Kokken!), Horn hellblau.

Man kann auch nach Nr. 3 mit wässeriger Bismarckbraunlösung oder dünnem Karbolfuchsin nachfärben, dann sind die nicht grambeständigen Bakterien in der Kontrastfarbe dargestellt.

Czaplewski empfiehlt zur Nachfärbung folgende Karbolfuchsin-Glyzerinlösung: 1 gr Fuchsin wird mit 5 ccm Acidum carbolicum liquefactum bis zur vollständigen Lösung in einer Reibschale verrieben. Es werden 50 ccm Glyzerin und, nachdem dies gut vermischt ist, 100 ccm Wasser zugefügt.

1 ccm dieser Stammlösung wird zum Gebrauch mit 10 ccm Wasser verdünnt, und hierin wird unter leichtem Erwärmen kurz gefärbt, in Wasser abgespült, getrocknet etc.

Bei der Gramschen Methode treten die Bakterien durch ihre scharfe, dunkle Farbe sehr deutlich hervor. Durch ihre Einteilung in solche Bakterien, welche grambeständig sind und solche, welche sich entfärben, hat die Methode hervorragende diagnostische Bedeutung.

Grambeständige Bakterien:	Nach Gram nicht färbbare Bakterien:
Streptococcus pyogenes,	Gonokokken,
Staphylococcus aureus, albus und citreus,	Meningokokken,
Micrococcus tetragenus,	Maltafieberkokken,
Diplococcus pneumoniae,	Typhusbacillus,
Tuberkelbacillus,	Bacterium coli,
Leprabacillus,	Rotzbacillus,
Tetanusbacillus,	Pestbacillus,
Milzbrandbacillus,	Influenzabacillus,
Diphtheriebacillus,	Pneumoniebacillus,
Bacillus des Rhinoskleroms,	Bacillus Friedländer,
Bacillus aërogenes capsulatus,	Bacillus pyocyaneus,
Bacillus der Mäusesepticaemie,	Proteus,
Bacillus des Schweinerotlaufs,	Dysenteriebacillus,
Bacillus des Rauschbrandes,	Bacillus der Hühnercholera,
Bacillus des malignen Oedems, (besonders nach der Modifikation von Claudius)	Bacillus der Kaninchensepticaemie,
	Bacillus der Wild- und Schweineseuche,
	Choleraspirillen, Vibrio Metschnikoff und des weiteren Recurrensspirillen.

zahlreiche Fäulnisbakterien
und des weiteren Aktinomycespilz und Soorpilz.

Der Tuberkelbacillus färbt sich erst bei langem Färben unter Erwärmen, desgleichen die Bazillen des malignen Oedems und des Rauschbrandes.

Unzählig gross ist die Anzahl der Modifikationen der Gramschen Methode. Unter ihnen können nur folgende angeführt werden:

In erster Linie bedeutsam ist hier die Weigertsche Modifikation und zwar ist es dieselbe Modifikation, welche sich Weigert als Methode zur Färbung des Fibrins erdachte.

Das Wesentliche liegt also hier darin, dass nach der Jodierung nicht in absolutem Alkohol, sondern, was schonender ist, in Anilinöl-Xylol differenziert wird. Auch wird hierbei eine besonders brauchbare Methylviolettlösung und eine starke Jodlösung verwandt. (Wegen aller Einzelheiten s. Seite 192.)

Die Methode wird ganz der Schnittfärbung entsprechend auch am Deckglastrockenpräparat ausgeführt.

Die Differenzierung weicht auch in den folgenden kleinen Modifikationen von der ursprünglichen Gramschen Methode ab. Günther schiebt in die Differenzierung mit absolutem Alkohol eine kurze solche (10 Sekunden) mit Alkohol, welchem 3 Teile Salpetersäure zugesetzt sind, ein.

Ribbert setzt dem Differenzierungsalkohol 10—20 Teile Essigsäure,

Nicolle bis $^1/_3$ Volumen Azeton zu.

Von Bedeutung ist die neue Modifikation von Löffler.

Er fand, dass von den verschiedenen im Handel befindlichen Methylvioletten und Gentianavioletten etc. die brauchbarsten Farbstoffe sind:

Methylviolett VI. B. und
Methylviolett B. N.

Als Lösung erwies sich am besten eine 10%ige Lösung in 1—2½%igem Karbolwasser.

1. Färben hierin 2—10 Minuten.
2. Gründliches Abspülen in Wasser.
3. Einbringen in Gramsche Jod-Jodkaliumlösung 2 Minuten.
4. Differenzieren einige Minuten in 5%iger wässeriger Salpetersäure, oder Schwefelsäure, oder 10 Sekunden in 3%igem Salzsäurealkohol.
5. Weiteres Differenzieren in absolutem Alkohol oder 30%igem Azetonalkohol, bis zur Entfärbung.
6. Xylol oder Trocknen. Kanadabalsam.

Statt der Lugolschen Lösung in Nr. 3 zieht Löffler eine von Unna angegebene Jodkalium-Wasserstoffsuperoxydmischung (etwas Jodkalium vor dem Gebrauch in Wasserstoffsuperoxyd einbringen) vor.

Eine Gegenfärbung nimmt er nach der Entfärbung durch Behandlung mit verdünnter Fuchsinlösung vor.

In der Regel ist Methylviolett VI. B. bei Färbung auf Pneumokokken Methylviolett B. N. vorzuziehen.

Die Karbolsäurelösung ist bei der Bereitung der Farblösung stets frisch herzustellen.

Besonders scharf färbt die Methylviolettfarblösung, wenn man ihr zu je 10 ccm 1 ccm konzentrierte absolut alkoholische Methylenblaulösung hinzufügt, wobei das Methylenblau als Beize zu wirken scheint.

Claudius verwendet statt der Jod-Jodkaliumlösung auf die Hälfte mit Wasser verdünnte konzentrierte wässerige Pikrinsäurelösung für 1 Minute.

III. Untersuchung und Färbung von Schnittpräparaten.

Gewebe, welche auf Bakterien untersucht werden sollen, härtet man am besten in Alkohol, doch ist Härtung in Formol oder Sublimat auch angängig.

Müllersche Flüssigkeit oder dergl. ist nicht zu empfehlen, da in ihr die Bakterien nicht schnell genug abgetötet werden, somit sich also noch vermehren können.

Schmorl warnt davor auch auf Bakterien zu färbende Objekte zu lange im Alkohol liegen zu lassen. Die Färbbarkeit der Bakterien kann dadurch gestört werden.

Auch Gefriermikrotomschnitte nach Formolhärtung kann man gut verwenden, besonders wenn man sie vor der Färbung einige Zeit in Alkohol liegen lässt.

Bei der Einbettung wird diejenige in Paraffin der in Celloidin vorgezogen, weil das letztere sich bei dem Färben mit basischen Farbstoffen leicht mitfärbt, doch ist auch Einbettung in Celloidin durchaus angängig.

Zur Färbung dienen dieselben Farblösungen, wie sie oben für Bakterienfärbungen in Ausstrichpräparaten angegeben wurden, doch muss man die Schnitte bedeutend länger als wie die Deckglastrockenpräparate färben; am besten nimmt man die Färbung in der Wärme vor, indem man solange über die Flamme hält, bis gerade Dämpfe aufsteigen.

Des weiteren muss man differenzieren und zwar mit Alkohol, Salzsäurealkohol, Anilinöl-Xylol, Jod-Jodkalium und Alkohol und dergl.

Zuweilen muss bei gegen Alkohol sehr empfindlichen Bakterien der Alkohol vermieden werden. Man kann dann auch an unentparaffinierten Schnitten nach der bereits beschriebenen Schmorlschen Methode verfahren.

Bei der Aufhellung der Schnitte muss man Karbol-Xylol, Nelkenöl und dergl. vermeiden, da sie häufig die Farbe wieder ausziehen. Man benutzt reines Xylol und bettet in neutralen in Xylol gelösten Kanadabalsam ein.

Die besonders für Schnittpräparate angegebenen Methoden sollen nun noch zusammengestellt werden:

1. Löfflersche Methylenblaumethode.
   1. Färben in Löfflerschem Methylenblau 5 Minuten bis $^1/_2$ Stunde.
   2. Differenzieren in $^1/_2$—1%iger Essigsäure 10—30 Sekunden.
   3. Auswaschen in 90%igem Alkohol 2—5 Minuten.
   4. Entwässern in absolutem Alkohol.
   5. Xylol. Balsam.

Bei den Färbungen auf Typhusbazillen und Bazillen der Hühnercholera und Schweineseuche ist es nach Nicolle vorteilhaft nach der Färbung und dem Auswaschen in Wasser in eine 10%ige Gerbsäurelösung $^1/_2$—1 Minute einzulegen, dann in absolutem Alkohol zu entwässern, in Xylol aufzuhellen und in Balsam einzuschliessen.

Bei Influenzabazillen darf man nur sehr gering angesäuertes Wasser zur Differenzierung benutzen.

2. Färbung mit Methylviolett.

1. Färben in 2%iger wässeriger Methylviolett- (Gentianaviolett-) lösung 10—20 Minuten.
2. Abspülen in Wasser.
3. Differenzieren in 70%igem Alkohol bis die Schnitte hellgelb erscheinen.
4. Entwässern in absolutem Alkohol.
5. Xylol. Kanadabalsam.

Diese Methode gibt, da alle Differenzierung in Säuren etc. vermieden wird, sehr gute und ungeschrumpfte Bilder; die meisten Mikroorganismen färben sich sehr gut mit ihr, der Rotzbazillus in der Regel nicht.

3. Färbung mit verdünntem Fuchsin nach Pfeiffer.

1. Färben in 10 ccm Wasser, welches 3 ccm des oben angegebenen Karbolfuchsins enthält $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde.

2. Differenzieren in mit Salzsäure oder Essigsäure ganz schwach angesäuertem absoluten Alkohol (etwa 1 promillig); hierin wird gleichzeitig entwässert.

Der Schnitt wird hellviolett.

3. Xylol. Balsam.

4. Methode mit polychromem Methylenblau nach Zieler.

1. Fixieren in Orthschem Gemisch oder sonstigen Flüssigkeiten, ausser osmiumsäurehaltigen, Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten in Paraffin oder Celloidin, Schneiden.

2. Färben der Schnitte 8—24 Stunden in folgender, Pranterscher Orceïnlösung:

Orceïn D. Grübler 0,1 gr,
offic. Salpetersäure 2,0 ccm,
70 %iger Alkohol 100 ccm.

3. Kurzes Abspülen in 70 %igem Alkohol (zur Entfernung des Orceïnüberschusses).

4. Waschen in Wasser.

5. Färben in polychromem Methylenblau 10—30 Minuten (eventl. länger).

6. Waschen in destilliertem Wasser.

7. Differenzieren in Unnaschem Glyzerin-Athergemisch (Grübler) bis keine Farbwolken mehr abgehen und der Schnitt hellblau erscheint.

8. Abspülen in destilliertem Wasser.

9. Einlegen in 70 %igen Alkohol einige Minuten.

10. Entwässern in absolutem Alkohol.

11. Xylol. Balsam.

Das Protoplasma erscheint graubraun, Bakterien sind dunkelblau, desgleichen Kerne, elastische Fasern rotbraun. Der Untergrund ist farblos. Die Methode eignet sich besonders zur Darstellung schwer färbbarer Bazillen, wie die Unna-Ducreyschen Streptobazillen, Gonokokken, Rotzbazillen etc.

5. Fraenkel färbt ebenfalls mit polychromem Methylenblau, spült ab und differenziert in einem Gemisch von:

33 %ige Tanninlösung,
$^1/_2$ %ige wässerige Säurefuchsin- oder Orangelösung,
und Glyzerinäthermischung (Unna)
zu gleichen Teilen.

Des weiteren sind für Bakterienfärbungen in Schnittpräparaten besonders zu empfehlen:

6. Die Methode nach Giemsa für Schnittpräparate, modifiziert von Giemsa selbst oder Schridde.

7. Die Leishmansche Methode.

8. Die Methode nach May-Grünwald (Jenner), für Schnittpräparate modifiziert von Zieler.

9. Die Pappenheim-Unnasche Methylgrün-Pyroninmethode.

(Wegen aller Einzelheiten dieser Methoden s. im Kapitel Blut).

Von besonderer Wichtigkeit ist naturgemäß auch für Schnittpräparate die differenziell-diagnostisch wichtige

10. Gramsche Methode.

Bei ihr verfährt man am besten im Schnittpräparate so, dass man zunächst eine Vorfärbung der Kerne mit Lithionkarmin vornimmt, und sodann ganz nach der Weigertschen Modifikation d. h. ganz nach seiner Fibrinmethode (s. S. 192) weiterverfährt.

Sollten sich grampositive Bakterien nach dieser Methode nicht gut darstellen lassen, so ist die bereits Seite 194 empfohlene Oxydation und Reduktion nach Weigert anzuwenden; dann wird das Resultat gut sein.

Oder aber man wendet

11. Die Löfflersche Modifikation ganz wie oben für Deckglaspräparate angegeben, an.

12. Für manche Bakterien und besonders für die Spirochaete pallida kommt die Levaditische Silbermethode in Betracht (s, dort).

Als allgemeine Übersichtsmethode zur Färbung auf Bakterien ist für Schnittpräparate eine Methylenblaufärbung und zwar am besten mit Löfflerschem Methylenblau zu empfehlen.

Des weiteren für die nach Gram färbbaren Bakterien die Gram-Weigertsche Methode.

In der Regel sollen diese beiden Färbungen vorgenommen werden.

IV. Methoden zur Darstellung bestimmter Bestandteile der Bakterien.

A. Für alle feineren Details der Struktur der Bakterien ist die Giemsa-Methode (bezw. ihre Modifikationen für Schnittpräparate) zu empfehlen.

B. Färbungen auf Bakteriengranula (Ernst Babessche Granula).

Ein Teil derselben färbt sich nach den noch für die Sporen zu besprechenden Methoden, desgleichen mit den die Tuberkelbazillen darstellenden.

Manche Körnchen nehmen auch bei Behandlung mit polychromem Methylenblau eine metachromatische Rotfärbung an, so in manchen Spirillen.

Fischer empfiehlt 1 ccm einer 1%igen wässerigen Methylenblau-(Höchst) lösung mit 2 ccm reiner Milchsäure und 100 ccm destilliertem Wasser zu vermischen und hierin zu färben.

Da diese Körnchen von besonderer Bedeutung für die Differenzialdiagnose zwischen Diphtheriebazillen und Pseudodiphtheriebazillen sind, so wird ihre Darstellung bei diesen des genaueren zu beschreiben sein.

C. Methoden zur Darstellung von Sporen.

Sporenfärbungen lassen sich bisher nur an Deckglastrockenpräparaten, nicht an Schnittpräparaten ausführen.

Sie nehmen den Farbstoff sehr viel schwerer als Bakterienleiber auf und erscheinen bei gewöhnlichen Bakterienfärbungen ungefärbt.

Man muss daher bestimmte Methoden anwenden, damit der Farbstoff in sie eindringen kann.

Entweder muss man die Farbe zu ersterem Zwecke besonders lange und in der Wärme einwirken lassen, oder man muss chemische Reagentien zu Hilfe nehmen.

Hat man die Sporen so gefärbt, so kann man differenzieren, wobei die einmal gefärbten Sporen den Farbstoff lange festhalten, die Bakterienleiber dagegen entfärbt werden; diese kann man dann in einer Kontrastfarbe färben.

1. Methode von Neisser und Hueppe.

1. Färben trockener hitzefixierter Ausstriche in gesättigter Anilinwasser-Fuchsinlösung bei 40—50 Grad 1—5 Stunden lang (von Zeit zu Zeit muss Anilinwasser zum Ersatz der eingedampften Flüssigkeit nachgegossen werden).
2. Entfärben in 25 %iger Schwefelsäurelösung 5 Sekunden.
3. Übertragen in Alkohol bis keine Farbwolken mehr abgegeben werden.
4. Abspülen in destilliertem Wasser.
5. Nachfärben in wässerigem Methylenblau oder Löfflerschem Methylenblau 2—3 Minuten.
6. Waschen in Wasser, Trocknen, Kanadabalsam.

Die Sporen erscheinen rot, die Bazillen selbst blau.

2. Methode von Moeller.

1. Beizen hitzefixierter Ausstriche in 5 %iger wässeriger Chromsäurelösung ½—10 Minuten.
2. Abspülen in Wasser.
3. Färben in Karbol-Fuchsin über der Flamme bis zu einmaligem Aufkochen 1 Minute.
4. Differenzieren in 5 %iger Schwefelsäure 5 Sekunden.
5. Gründliches Wässern.
6. Nachfärben in wässerigem Methylenblau 3 Minuten.
7. Wässern, Trocknen, Einschliessen in Kanadabalsam.

Will man sich mit Bestimmtheit vor Verwechslung mit Fettröpfchen sichern, so behandelt man nach der Fixation vor Nr. 1 die Ausstriche 2 Minuten lang mit Chloroform.

Auch bei dieser Methode sind die Sporen rot, die Bazillen blau gefärbt.

3. Kleinsche Methode (besonders für Milzbrandbazillen angegeben).

1. Sporenhaltiges Material wird in 0,6 %iger Kochsalzlösung emulgiert und die Emulsion mit dem gleichen Quantum filtrierten Karbolfuchsins 6 Minuten leicht erhitzt.
2. Von dieser Masse werden Ausstriche angelegt, an der Luft getrocknet und mittels durch die Flamme Ziehens fixiert.
3. Differenzieren in 1 %iger Schwefelsäure 1—2 Sekunden.
4. Wässern.

5. Nachfärben in dünner wässeriger Methylenblaulösung 3—4 Minuten.
6. Kurzes Waschen. Trocknen. Kanadabalsam.

Auch hier sind die Sporen rot, die Bazillen blau gefärbt.

D. Methoden zur Darstellung der Kapseln der Bakterien.

Bakterienkapseln, soweit die Bakterien solche haben, lassen sich gut nur an Bakterien nachweisen, welche frisch aus dem Tierkörper stammen. Bakterien aus Kulturen gewonnen, lassen eine Kapsel nicht gut erkennen.

Unter den besonderen Methoden seien die folgenden erwähnt:

1. Johnesche Methode.

1. Färben hitzefixierter Ausstriche in 2%iger wässeriger Gentianaviolettlösung 2 Minuten unter Erwärmen bis zur Dampfbildung.
2. Wässern.
3. Differenzieren in 1—2%iger Essigsäurelösung 10 Sekunden.
4. Wässern, Untersuchen in Wasser.

Die dunkelblauen Bazillen weisen eine hellblaue Kapsel auf.

Die Methode ist insbesondere für den Milzbrandbazillus angegeben worden.

2. Klettsche Methode.

1. Färben in 10%iger alkoholischer Methylenblaulösung mit dem 10fachen Volumen Wasser verdünnt unter Erwärmen bis zum Kochen.
2. Wässern.
3. Färben mit Fuchsinlösung von derselben Stärke, wie oben für das Methylenblau angegeben, 5 Sekunden.
4. Wässern. Untersuchen in Wasser.

Bazillen blau, Kapseln rot dargestellt.

3. Ribbertsche Methode.

1. Man färbt in folgender Lösung etwa 1 Minute:
   Heissgesättigte wässerige Lösung von Dahlia 100 ccm,
   Eisessig 12,5 ccm,
   Absoluter Alkohol 50 ccm.
2. Wässern. Trocknen. Einschliessen in Kanadabalsam oder Untersuchen in Wasser.

Die Bakterien sind tiefblau, die Kapseln hellblau gefärbt.

Die Methoden von Nicolle mit Karbol-Gentianaviolett, Mc Conkys mit einer Dahlia-Methylgrün-Fuchsinlösung, die Methode von Muir mit Gerbsäure-Quecksilberchlorid und Kalialaunlösung und Färbung in Karbolfuchsin sowie Methylenblau, von Weidenreich-Hamm: Fixierung in Osmiumsäure, Färbung nach Giemsa, sowie die Methode von Welch mit Anilinwasser-Gentianaviolett und Nachbehandlung mit Eisessig können hier nur erwähnt werden.

Besprochen sei noch die

4. Friedländersche Methode für Schnittpräparate.

1. Färben 2—24 Stunden in der Wärme in:
   Konzentrierte alkoholische Gentianaviolettlösung 50 ccm,
   Aqua dest. 100 ccm,
   Eisessig 10 ccm.
2. Differenzieren in 1%iger Essigsäurelösung 1—2 Minuten.
3. Entwässern in absolutem Alkohol.
4. Xylol. Balsam.

Die Kapsel ist hellblau, der Bazillus dunkelblau gefärbt.

Vorsichtiges Differenzieren ist nötig, sonst erscheint die Kapsel ebenfalls dunkelblau und hebt sich vom Bazillus nicht ab.

E. Methoden zur Darstellung der Geisseln (und Wimperhaare) der Bakterien.

Die Geisseln können nur an Ausstrichpräparaten, nicht an Schnittpräparaten dargestellt werden, und ihre Darstellung ist unsicher und schwierig.

Material nimmt man am besten von Agarkulturen und zwar erst 12—18 Stunden alten, nachdem man sich am besten zuerst von der Beweglichkeit der Bakterien im Präparat im hängenden Tropfen überzeugt hat.

Man muss absolut reine und fettfreie Deckgläschen für die Ausstriche benutzen. Am besten verfährt man folgendermafsen:

Man kocht neue Deckgläschen in konzentrierter Schwefelsäure 1 Stunde und spült sie nach dem Erkalten mehrfach mit destilliertem Wasser und sodann mit Alkohol und mit einer Mischung von Alkohol und Äther ab. Man lässt sie sodann trocknen und zieht sie mehrfach durch die Flamme.

Man fasse die Deckgläschen nur mit Pinzetten an und verteile die Bakterien auf ihnen sehr fein, am besten indem man auf 2 Deckgläschen je einen Tropfen Wasser bringt, den ersten sodann mit der Kultur impft und diese in dem Tropfen Wasser verteilt und eine Öse dieser Flüssigkeit in den auf dem zweiten Deckgläschen befindlichen Tropfen Wasser bringt, wiederum verteilt und mit dieser Flüssigkeit nun auf einem dritten Deckgläschen den Ausstrich anlegt.

Es sollen alle schleimigen oder eiweissartigen Substanzen, so auch Beimengung des Agars, möglichst vermieden werden.

Man kann auch nach Hill die entnommenen Bakterien in der Flüssigkeit 15 Minuten zentrifugieren, dekantieren, mit Wasser auffüllen, wiederum zentrifugieren und dies 3—4 mal wiederholen und sodann erst die Ausstriche anlegen.

Auf diese Weise soll Befreiung der Bakterien von allen anhängenden Massen erreicht werden.

Die Ausstriche müssen an der Luft trocknen und dann sehr vorsichtig in geringer Wärme fixiert werden.

Zur besonderen Darstellung der Geisseln dienen vor allem folgende Methoden:

1. Löfflersche Methode, modifiziert von Bunge.

Hierbei ist folgende Flüssigkeit nötig:

Gesättigte wässerige Gerbsäurelösung 30 ccm,
Liquor ferri sesquichlorati (1 Teil mit zwei Teilen Wasser verdünnt) 10 ccm,
Konzentrierte wässerige Fuchsinlösung 8 ccm.

Die Beize muss vor der Benützung einige Tage an der Luft stehen, dann nimmt sie, statt des ursprünglichen blauvioletten, einen schmutzig rotbraunen Ton an.

Um die Beize früher benützen zu können muss man auf 5 ccm der Beize (filtriert) etwa $^1/_2$ ccm 3 %ige frische Wasserstoffsuperoxydlösung (gerade erst zu bereiten) zusetzen.

Die frisch hergestellte Mischung ist direkt auf das Deckgläschen zu filtrieren.

Die Methode ist folgende:

1. Beizen der nur durch leichtes Erwärmen (1 mal durch die Flamme ziehen) fixierten Ausstriche in der obigen Beizflüssigkeit 1—5 Minuten, unter Erwärmen bis Dämpfe aufsteigen.

2. Wässern.

3. Färben in Karbol-Fuchsin oder Karbol-Gentianaviolett 5 Minuten unter leichtem Erwärmen.

4. Wässern. Trocknen. Einschliessen in Balsam.

Die ursprüngliche Löfflersche Beize bestand aus 20%iger in der Hitze gelöster Lösung von Tannin, versetzt mit dem halben Volumen wässeriger Ferrosulfatlösung und mit alkoholischer Fuchsinlösung.

Gefärbt wurde mit Anilinwasser-Fuchsin, welches durch Zusatz von Natronlauge neutralisiert wurde, wobei der Farbstoff eben auszufallen beginnt.

Eine andere Beize hat Fischer angegeben.

2. Van Ermengemsche Silbermethode.

Hierbei werden folgende Beizen benötigt:

1. 2%ige Osmiumsäure 10 ccm,
   10—20%ige Tanninlösung 20 ccm,
   Eisessig 1 Tropfen.

Des weiteren folgende Lösung:

2. Acidum gallicum 5 gr,
   Tannin 3 gr,
   Natrium acetic. fus. 10 gr,
   destilliertes Wasser 350 ccm.

Die Methode ist folgende:

1. Beizen des fein ausgestrichenen und sorgfältig durch die Flamme gezogenen Ausstriches in obiger erster Beizflüssigkeit bei Zimmertemperatur 30 Minuten oder im Brutschrank bei 50—60° 5 Minuten.

2. Sorgfältiges Wässern.

3. Abspülen in absolutem Alkohol.

4. Eintauchen des Ausstriches für einige Sekunden in $^1/_2$%ige Silbernitratlösung.

5. Direktes Übertragen in die Natrium-Acidum gallicum-Tanninlösung etwa 10 Sekunden.

6. Zurückbringen des Ausstriches in die Silbernitratlösung und Liegenlassen in dieser unter fortwährendem Bewegen der Lösung bis sich der Ausstrich zu schwärzen beginnt.

7. Kurzes Wässern, Untersuchen in Wasser, ob die Geisseln gefärbt sind; ist dies nicht der Fall, so muss nochmals in die Lösung 5 und dann in die Silbernitratlösung gebracht werden. Sind die Geisseln gefärbt, so wird

8. getrocknet und in Balsam eingeschlossen.

Helles Tageslicht ist für die Methode am besten.

Die Bakterien sind dunkelbraun, die Geisseln ganz schwarz gefärbt.

Eine Modifikation der Methode stammt von Stephens, welcher Ausstriche bis zu einer Stunde in der Beizflüssigkeit beizt und dann eine 0.1%ige Silbernitratlösung einwirken lässt, welcher einige Tropfen einer zu gleichen Teilen gemischten 5%igen Tanninlösung und 5%igen Ammoniaklösung zugesetzt sind.

Nach einer Minute etwa wird in Wasser gewaschen und diese Prozedur wiederholt bis die Ausstriche schwarz gefärbt erscheinen; dann wird gewaschen, getrocknet und eingeschlossen.

Eine andere Modifikation stammt von Hinterberger.

3. Zettnowsche Methode.

1. Übertragen der Bakterien in einen Tropfen Wasser auf einen Objektträger und etwas hiervon in einen grösseren Wassertropfen dem 1—2 Ösen 2%iger Osmiumsäurelösung beigemischt sind. Hiermit werden Ausstrichpräparate angefertigt.

2. Fixieren dieser mittels Hitze.

3. Warm beizen 5—7 Minuten in folgender Lösung:

5 gr. Tannin werden in 100 ccm Wasser gelöst, auf 50—60° erhitzt und etwa 36 ccm einer 5%igen Lösung von Tartarus stibiatus in Aqua dest. zugefügt und erhitzt, bis der Niederschlag gelöst ist.

Hierin wird 5—7 Minuten in der Hitze, dann indem man das Schälchen sich abkühlen lässt, bis die Beize sich zu trüben beginnt, gebeizt.

5. Wässern.

6. Versilbern in:

Arg. nitr. 5,0 ccm,
Aqua dest. 30 ccm,
Natr. sulf. 6 ccm.

Der Niederschlag wird gewaschen, mit 500 ccm Aqua dest. vermischt und absitzen lassen. Von der darüberstehenden Flüssigkeit wird mit einem gleichen Teile Wasser gemischt und hierzu so viel (33%iges) Äthylamin und Ammoniak zugesetzt, bis der braune Niederschlag wieder verschwunden ist.

Man gibt 3—4 Tropfen hiervon auf das Deckglas und erhitzt bis die Lösung stark riecht und die Ausstrichränder sich schwärzen.

6. Wässern. Trocknen. Einschliessen in Balsam.

Geisseln sind schwarz auf hellem Grund dargestellt.

Die Methoden von Luca Valenti, (Beizung mit 20%iger Gerbsäure und Färbung durch Zusatz von Karbolfuchsin), von Pitfield bezw. Hunt und Smith und de Rossi können hier nur erwähnt werden.

V. Übersicht über die Färbungen der einzelnen Bakterien.

A. Kokken.

a) Streptococcus pyogenes, kurzgliedrig, selten zu langen Ketten ausgewachsene Körnerreihen, Haupterreger von eitrigen und pseudomembranösen Prozessen, sowie von Septicaemie und Pyaemie.

Hierher gehören auch der Streptococcus erosypelatis und puerperalis.

Dieselben färben sich nach Gram (Nachfärbung mit Bismarckbraun ist zu vermeiden) sowie auch mit allen sonstigen Bakterienfarbflüssigkeiten.

b) Pneumococcus, Streptococcus lanceolatus (Fraenkel-Weichselbaum).

Zweigliedrige oder etwas längere Ketten, die einzelnen Kokken zumeist lanzettförmig.

Sie färben sich mit der Gramschen Methode etc. und weisen Kapseln auf, welche nach der Johneschen, Friedländerschen etc. Methode färbbar sind.

c) Meningococcus intracellularis (Weichselbaum) ist (nach Weichselbaum) nach Gram nicht färbbar, dagegen leicht mit basischen Anilinfarben besonders mit Löfflerschem Methylenblau.

Fraenkel empfiehlt Ausstriche in folgender Lösung 5 Minuten zu färben:

20 ccm Wasser werden mit 8 Tropfen gesättigter, wässeriger Methylenblaulösung und 45—50 Tropfen Karbol-Fuchsin versetzt.

Es wird sodann in Wasser abgespült, getrocknet etc.

Dann sollen die Zellen rot, die Mikroorganismen blau erscheinen.

Schnittpräparate werden auch mit polychromem Methylenblau gefärbt, doch ist die Schnittfärbung überhaupt schwierig.

Schmorl empfiehlt für solche als am relativ geeignetsten die Färbung unter Alkoholvermeidung am unentparaffinierten Schnitt.

d) Staphylococcus pyogenes, der gewöhnliche Eitererreger, mit seinen Unterabteilungen aureus, citreus, albus färbt sich sowohl im Ausstrichpräparat wie im Schnittpräparat gut nach Gram bezw. Gram-Weigert.

e) Gonococcus stellt einen Diplococcus von sogenannter »Semmelform« dar und liegt zumeist in Eiterzellen; es ist differentialdiagnostisch sehr wichtig, dass er nach der Gramschen Methode nicht färbbar ist.

Am besten färbt man mit Bismarckbraun oder Fuchsin nach, wobei die entfärbten Gonokokken sich hiermit färben.

Im Zweifelfall legt man am besten von dem fraglichen Material am Ende eines Objektträgers, von sicheren Staphylokokken am anderen Ende eines solchen, Ausstriche an, und färbt beide erst nach Gram und sodann mit Bismarckbraun oder Fuchsin nach; dann müssen die Staphylokokken blau, die Gonokokken, rot bezw. braun gefärbt sein.

Die Gonokokken färben sich gut mit Löfflerschem Methylenblau.

Von besonderen Methoden zur ihrer Darstellung sind besonders folgende angegeben worden:

1. Löfflers Methode mit Methylenblau-Bromeosin (s. S. 205).

Die überfärbten Präparate sollen differenziert werden in:

1 ‰ Bromeosinlösung in Alk. abs. 177 ccm,
Wasser 20 ccm,
Eisessig 3 ccm.

Kerne blassbläulich, Zellen blassrosa, Gonokokken intensiv blau.

2. Fraenkelsche Methode.

1. Färben der Ausstriche in konzentrierter alkoholischer Eosinlösung unter Erwärmen etwa 3 Minuten.

2. Absaugen des Eosins mit Filtrierpapier.

3. Nachfärben etwa 20 Sekunden in gesättigter alkoholischer Methylenblaulösung.

4. Wässern, Trocknen, Einschliessen in Balsam.

Kerne und Gonokokken blau, Protoplasma und eosinophile Granula rot.

3. Methode von Pappenheim.

1. Färben in:

Methylgrün 2 gr,
Pyronin 2 gr,
5%iges Karbolwasser 100 ccm
3—5 Minuten.

2. Abspülen in Wasser, Trocknen, Einschliessen in Balsam.

Kokken leuchtend rot.

4. Des weiteren ist eine Methode mit Färben in Methylenblau, Differenzieren in Essigsäure und Nachfärben in dünner Safraninlösung von Schütz, sowie eine Färbung mit Thionin und Fuchsin von Lang angegeben worden.

Für Schnittpräparate ist von Touton Karbol-Fuchsinfärbung, von Schmorl desgleichen mit kurzer Differenzierung in Essigsäure, sowie Färbung in Löfflerschem Methylenblau (1—2 Stunden) empfohlen worden; des weiteren ist polychromes Methylenblau oder die oben erwähnte Zielersche Methode gut anwendbar.

f) Micrococcus tetragenus, welcher bei Gesunden saprophytisch vorkommt, aber zuweilen einen Eiterungserreger darstellt.

Er färbt sich nach Gram und mit den gewöhnlichen Bakterienfärbemitteln.

g) Micrococcus melitensis (Bruce).

Der Erreger des sogenannten Maltafiebers ist nach Gram nicht färbbar, dagegen mit den basischen Anilinfarben.

B. Bazillen.

a) Bacterium pneumoniae Friedländer, ein kurzes plumpes Stäbchen, kokkenähnlich, zuweilen der Erreger von Pneumonie und Bronchitis, sowie auch sonstiger entzündlicher oder eitriger Prozesse.

Er ist zum Unterschied von dem gewöhnlichen Pneumonieerreger, dem Diplococcus pneumoniae, nach Gram nicht färbbar, hingegen färbt er sich mit allen gewöhnlichen Bakterienfarbflüssigkeiten.

Seine Kapsel lässt sich nach Johne, Ribbert etc. darstellen.

Für die Kapseln der Schnittpräparate dient die für solche angegebene Friedländersche Methode.

Nahe verwandt dem Friedländerschen Bazillus ist der Rhinosklerombazillus (v. Frisch).

Er ist aber nach Gram färbbar und unterscheidet sich hierdurch von dem Friedländerschen Bazillus. Bei Anwendung der Gramschen Methode färbt man mit dem Anilinwasser-Gentianaviolett nach Wolkowitsch 1—2 Tage. Mit dem Friedländerschen Bazillus teilt er sonst auch das Vorhandensein von ebenso färbbaren Kapseln.

Nach Schmorl lassen sich die Kapseln nach Osmiumsäurefixierung und gründlichem Wässern in Schnittpräparaten mit Hämatoxylin hell-graublau färben, indem sie sich von den dunkelblau gefärbten Bazillen abheben.

b) Influenzabazillus (Pfeiffer).

Ein kurzes Stäbchen mit abgerundeten Enden, ist nach Gram nicht färbbar und wird in Ausstrichpräparaten sowie in Schnittpräparaten hauptsächlich mit sehr dünnem Karbolfuchsin (3 Tropfen auf 10 ccm Wasser) dargestellt.

Man färbt hierin bei Ausstrichen etwa 10 Minuten, bei Schnitten bis zu einer Stunde und differenziert bei letzteren in 1 promilliger Essigsäure und in absolutem Alkohol, bis der Schnitt hellrotviolett erscheint.

Sodann sofortiges Übertragen in Xylol etc.

Auch die Löfflersche Methode mit Methylenblau-Bromeosin (s. S. 205) ist gut anwendbar.

Der dem Influenzabazillus ähnliche Koch-Weekssche Bacillus conjunctivitidis entfärbt sich ebenfalls nach Gram und lässt sich mit verdünntem Karbolfuchsin gut darstellen, auch das sogenannte Bacterium tussis convulsivae verhält sich ganz wie der Influenzabazillus.

c) Der Typhusbazillus (Eberth, Gaffky) stellt ein plumpes Stäbchen mit lebhafter Eigenbewegung und ringsherum ansitzenden Geisseln dar.

Ihm nahe stehen die Paratyphusbazillen sowie das Bacterium coli commune, von welchen er nur in kulturellen Eigenschaften getrennt werden kann.

Diese Bazillen färben sich nicht nach Gram, dagegen mit Löfflerschem Methylenblau oder Karbolfuchsin, mit ersterem auch in Schnittpräparaten. Man wende in der Regel lange Färbung unter Erwärmen an. Schnittpräparate kann man in dünner Essigsäure differenzieren.

Man kann sie auch mit folgender Lösung färben (10 Minuten):

Methylviolett 5 gr,
Alkohol 1 ccm,
Anilinöl 2 ccm,
Wasser 80 ccm.

Differenzieren in 1 promilliger wässeriger Essigsäurelösung 10 15 Minuten.
Entwässern in Nelkenöl, Aufhellen in Xylol und Einschliessen in Balsam.

Zur feineren Unterscheidung der Typhusbazillen von verwandten Bazillenarten dient die hier nicht näher beschreibbare Agglutinationsprobe.

d) Dysenteriebazillus, vom Shiga-Kruseschen und Flexnerschen Typus, der Erreger der (nicht tropischen) Ruhr ist dem Typhusbazillus sehr ähnlich.

e) Proteus (Bacterium vulgare Hauser).

Eine überaus vielgestaltige Bakterienart mit Eigenbewegungen, welche als Erreger von Fleischvergiftungen etc. Bedeutung hat, mit Bacterium coli zusammen in Abszessen, jauchigen Prozessen vorkommt und auch als Erreger des Weilschen infektiösen Ikterus beschuldigt wird.

f) Pestbazillus (Kitasato-Yersin), ein kurzes unbewegliches Stäbchen, zumeist, wenn aus dem Körper stammend, Polfärbung zeigend.

Der Pestbazillus hat besonders charakteristische Involutionsformen, welche sehr schnell auftreten.

Die Pestbazillen färben sich nicht nach Gram, dagegen mit den gewöhnlichen basischen Farbstoffen, wobei sich, besonders wenn eine starke Färbung (in Löfflerschem Methylenblau oder Karbol-Fuchsin) unter Erhitzen vorgenommen und längere Zeit in absolutem Alkohol liegen gelassen wird (25 Minuten), an Ausstrichpräparaten die Polfärbung deutlich dokumentiert. Hierfür wird besonders empfohlen die Ausstriche nicht in der Hitze, sondern in absolutem Alkohol, welcher sodann in der Nähe der Flamme rasch verdunsten soll, zu fixieren.

Man kann auch zuweilen mit der Löfflerschen Geisselfärbung eine Kapsel nachweisen, desgleichen nach der Pitfieldschen Methode.

Von Gotschlich ist für Ausstriche empfohlen worden, ganz kurz in unverdünnter Karbol-Fuchsinlösung zu färben und sofort mit Wasser abzuspülen.

Eine weitere Methode für die Pestbazillen ist von Kossel (Modifikation der Romanowskyfärbung) angegeben worden. Die hierzu benötigte Lösung hat folgende Zusammensetzung:

Konzentrierte wässerige Lösung von Methylenblau offiz. (Höchst) 5 ccm.
Aqua dest. 50 ccm.
5%ige wässerige Kristallsodalösung 15 Tropfen.

Unter Umschütteln Hinzufügen von 1%iger wässeriger Lösung von Eosin A extra Höchst 2,5—5 ccm (tropfenweise zusetzen, ohne dass sich ein Niederschlag bilden darf).

Die Lösung ist stets frisch zu bereiten.

Hierin werden in Alkohol fixierte Ausstrichpräparate 8 Minuten gefärbt, Schnittpräparate 2 Stunden, dann in Wasser abgespült, ganz kurz in stark verdünnter Essigsäure differenziert (bei Schnitten bis dieselben einen rosa Ton zeigen), gründlich in Wasser abgespült, dann entwässert etc.

Die Bazillen erscheinen dann dunkelblauviolett, Gewebe rosa.

Auch die Methylenblau-Bromeosin Methode Löfflers (s. S. 205) färbt die Bazillen.

g) Bacterium ulceris cancrosi (Unna-Ducrey), der Erreger des Ulcus molle, färbt sich nicht nach Gram, hingegen mit alkoholischen Lösungen von Fuchsin und Violett und besonders mit Löfflerschem Methylenblau.

Bei Schnittpräparaten färbt man mit letzterem etwa 15 Minuten und differenziert nur ganz kurz in Alkohol.

Unna hat eine Methode angegeben, zu welcher folgende Lösungen benötigt werden:

Lösung I: Methylenblau 1 gr.
Kalium carbonicum 1 gr.
Aqua dest. 100 ccm.
Alkohol abs. 20 ccm.

Lösung II: Borax 1 gr,
Methylenblau 1 gr,
Aqua dest. 100 ccm.

Beide Lösungen werden gemischt.

1. Färben in dieser Mischung 5—10 Minuten.

2. Aufziehen der Schnitte auf den Objektträger. Trocknen mit Filtrierpapier. Differenzieren in Unnaschem Glyzerin-Äthergemisch (Grübler) einige Sekunden.

3. Trocknen, Entwässern in absolutem Alkohol.

4. Xylol. Balsam.

h) Milzbrandbazillus.

Ein unbewegliches Stäbchen mit Sporenbildung; die einzelnen Stäbchen hängen oft zu langen Fäden zusammen.

Sie färben sich nach der Gramschen Methode, desgleichen mit den gewöhnlichen Lösungen; nach Ott mit einer 3%igen Safraninlösung.

Für Schnittpräparate ist die Gramsche Methode, besonders in der Weigertschen Modifikation zu empfehlen.

Für die Gallerthüllen dient die Johnesche Methode.

Für Schnittpräparate empfiehlt Schmorl Färbung mit Nicolleschem Karbol-Thionin nach Sublimatfixierung und Paraffineinbettung, wobei sich die Kapseln metachromatisch rot gefärbt von den blauen Bazillen abheben.

i) Tetanusbazillus (Nicolaier).

Ein feines ganz gerades, bewegliches Stäbchen mit endständigen Sporen (Trommelschlägerartiges Anschwellen der Enden).

Derselbe färbt sich sowohl nach der Gramschen Methode, als auch mit den gewöhnlichen Farblösungen, seine Sporen mit den für diese angegebenen Methoden.

k) Rauschbrandbazillus und Bazillus des malignen Oedems färben sich nur unter besonderen Bedingungen nach der Gramschen Methode (s. dort), im übrigen mit den gewöhnlichen Farblösungen.

l) Bacillus phlegmonis emphysematosae (E. Fraenkel) färbt sich nach Gram und mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen.

[m) Die Bazillen des Schweinerotlaufes und der Mäuseseptic aemie färben sich nach Gram und mit den gewöhnlichen Methoden.]

n) Auch der Bacillus pyocyaneus färbt sich mit den gewöhnlichen wässerigen Farblösungen, besonders mit Löfflerschem Methylenblau, ohne nach Gram färbbar zu sein.

o) Der Diphtheriebazillus (Löffler), ein kleines, plumpes, unbewegliches Stäbchen von sehr verschiedenartigem Aussehen, oft mit kolbenartig verdickten Enden, oder auch mit verzweigten Fäden.

Er weist in seinem Innern die Ernst Babesschen Granula auf; letzteres zum Unterschied von den sogenannten Pseudodiphtheriebazillen.

Der Diphtheriebazillus färbt sich nach der Gramschen Methode aber nur bei sehr schwacher Differenzierung, des weiteren färbt er sich mit den gewöhnlichen wässerigen Anilinfarben, besonders mit Löfflerschem Methylenblau oder mit Fuchsin.

Zur besonderen Darstellung der Ernst Babesschen Granula, welche zur Unterscheidung von Pseudodiphtheriebazillen differenzialdiagnostisch sehr wichtig sind, dient vor allem folgende Methode:

1. Neissersche Methode.

Sie soll am besten an 9—24 Stunden alten Kulturen vorgenommen werden.

Man benötigt bei ihr folgende 3 Lösungen:

Lösung I: Methylenblau med. Höchst 1 gr.
96 %iger Alkohol 20 ccm.
Aqua dest. 1000 ccm.
Eisessig 50 ccm,
filtrieren.
Lösung II: Kristallviolett Höchst 1,0 gr,
Alkohol 10 ccm,
Aqua dest. 300 ccm.
Lösung III: Chrysoidin 2 gr,
Heisses Wasser 300 ccm.

Man mischt: Lösung I, 2 Teile, Lösung II, 1 Teil.

1. Färben hierin (frisch herstellen) etwa 10 Sekunden.
2. Wässern.
3. Nachfärben mit Lösung III, (filtrieren) etwa 10 Sekunden.
4. Abspülen mit Wasser.
5. Trocknen. Balsam.

Die Diphtheriebazillen färben sich gelbbraun, die Körnchen blau; dieselben liegen besonders an den Polen.

Man kann auch in der Methylenblaulösung 10 bis 15 Sekunden färben und nach Wässern in einer heissgesättigten 2 promilligen wässerigen Bismarckbraunlösung 3 bis 5 Sekunden nachfärben, wässern, trocknen und einschliessen.

Der Effekt der Färbung ist ein ähnlicher wie der obige.

Die Methoden von Hunt mit Methylenblau-Gerbsäure und Methylorange, wobei die Bazillen hellgrün, die Granula dunkelblau werden und die Methoden von Pitfield, sowie Ljubinsky mit Pyoktannin (Merck) und Vesuvin, wobei die Bazillen dunkelviolett, die Körnchen blauschwarz werden, ferner die Modifikation von Blumenthal und Lipskerow, welche an die Stelle des Vesuvins eine $^1/_3$ %ige Chrysoidinlösung setzen, können nur erwähnt werden.

p) Rotzbazillus (Schütz).

Ein kleines Stäbchen ohne Eigenbewegung und Sporenbildung, häufig mit Involutionsformen, sowie echten Verzweigungen, ist nach Gram nicht färbbar; auch mit den gewöhnlichen wässerigen Lösungen basischer Anilinfarbstoffe färben sich die Rotzbazillen nicht sehr gut, am besten noch mit Löfflerschem Methylenblau.

Zu empfehlen ist für Deckglastrockenpräparate folgende:

1. Methode Löfflers.

1. Färben mit Löfflerschem Methylenblau, (oder in Anilinwasser-Fuchsin, oder Anilinwasser-Gentianaviolett, welchem dieselbe Menge einer $^1/_{10}$ promilligen Kalilaugenlösung zugesetzt ist) unter leichtem Erwärmen 5 Minuten.
2. Wässern.
3. Differenzieren in 1 %iger Essigsäurelösung, welche durch Zusatz von Tropäolin 00 hellgelb gefärbt ist, 1 Sekunde.
4. Kurzes Wässern in destilliertem Wasser.
5. Trocknen, Kanadabalsam.

2. Ferner ist empfehlenswert die neue Methylenblau-Bromeosinmethode Löfflers (s. S. 205).

Für Schnittpräparate kommt besonders in Betracht:

3. eine weitere Löfflersche Methode.

1. Färben in Löfflerschem Methylenblau, oder wie oben etwa $^1/_2$ Stunde.
2. Abspülen in Wasser.

3. Differenzieren 5 Sekunden in:

Wasser 100 ccm.

Gesättigte wässerige Lösung schwefliger Säure 2 Tropfen,

5%ige wässerige Lösung von Oxalsäure 1 Tropfen.

4. Wässern.

5. Kurzes Entwässern in absolutem Alkohol.

6. Xylol. Balsam.

Man kann auch die Schnitte vor der Färbung einige Minuten mit einer 1/10promilligen Kalilauge behandeln.

Eine ähnliche Methode mit alkalischem Methylenblau hat Schütz, eine Methode mit Karbolwasser-Methylenblau Kühne angegeben.

Für Schnittpräparate ist auch geeignet folgende:

4. Methode von Abbot.

1. Färben nicht entparaffinierter Paraffinschnitte in Löfflerschem Methylenblau 15 Minuten.

2. Nachfärben in mit dem 10 fachen Volumen Wasser verdünntem Karbolfuchsin 30 Minuten.

3. Differenzieren in 1/3%iger Essigsäurelösung 10 Sekunden.

4. Waschen in destilliertem Wasser.

5. Trocknen mit Filtrierpapier und durch ganz gelindes Erwärmen.

6. Xylol. Balsam.

5. Schmorl empfiehlt auch hier um den Alkohol, welcher die Färbung der Rotzbazillen schädigt, zu vermeiden seine Methode am unentparaffinierten Schnitt.

Des weiteren zu erwähnen ist für Schnitte folgende:

6. Methode von Noniewicz.

1. Färben in Löfflerschem Methylenblau 2—5 Minuten.

2. Waschen in destilliertem Wasser.

3. Differenzieren 5 Sekunden in:

1/2%ige Essigsäure 75 ccm,

1/2%ige wässerige Lösung von Tropäolin 25 ccm.

4. Waschen in destilliertem Wasser.

5. Aufziehen der Schnitte auf den Objektträger (wenn nicht schon vorher geschehen) Abtrocknen mit Filtrierpapier.

6. Aufhellen in Xylol. Balsam.

Die Bazillen sind dunkelblau, das Gewebe ist hellblau gefärbt.

Statt des Löfflerschen Methylenblaus kann man auch polychromes Methylenblau benutzen.

q. Tuberkelbazillen.

Die Tuberkelbazillen haben die Eigentümlichkeit, besonders schwer färbbar zu sein, wohl infolge ihrer Fetthülle, hingegen, wenn sie einmal gefärbt sind, ihre Farbe stärker als andere Bakterien zurückzuhalten.

Man färbt lange und in der Wärme in einer Farbflüssigkeit, welche eine Beize enthält. Differenziert man dann mit stärkeren Säuren, so bleiben nur noch die Tuberkelbazillen gefärbt, und man kann die anderen Bakterien, Kerne etc. in einer Kontrastfarbe darstellen, sodass isoliert nur noch die Tuberkelbazillen in der ersten Farbe gefärbt sind.

Diese Methoden sind um so wichtiger, als überhaupt die Tuberkelbazillen in der pathologischen Histologie unter allen Bakterien an Wichtigkeit wohl die erste Stelle einnehmen.

Bei den Untersuchungsmethoden auf Tuberkelbazillen können wir die folgende Einteilung vornehmen:

I. Gewinnung des Materials und event. Anreicherung desselben.
II. Färbungen von Ausstrichen.
III. Färbungen von Schnittpräparaten.
IV. Methoden zur Darstellung besonderer Wuchsformen des Tuberkelbazillus.
V. Methoden zur Unterscheidung des Tuberkelbazillus von anderen säurefesten Bazillen.

I. Gewinnung des Materials und eventuell Anreicherung desselben.

Beim Sputum, um das es sich zumeist handelt, ist es von grosser Wichtigkeit, die Stellen, an welchen sich erfahrungsgemäß Tuberkelbazillen am meisten finden, zum Ausstrich zu verwenden.

Man giesst zu diesem Zwecke das Sputum am besten in schwarz gefärbte Teller und sucht käsig erscheinende Bröckel heraus, welche man mit einer Pinzette heraushebt und zum Ausstrich verwendet; finden sich solche nicht, so wählt man schleimig-eitrige Partien.

Stets wähle man eine Reihe von Stellen und verstreiche von jeder solchen auf jeden Ausstrich, sodass eine wirkliche Mischung eintritt. Es ist dies wichtig, da sich sonst häufig nur an dieser oder jener Stelle, sonst aber nicht Tuberkelbazillen finden.

Bei Flüssigkeiten, wie Urin, Mageninhalt, Exsudaten, Lumbalpunktionsflüssigkeiten etc., muss man zumeist erst zentrifugieren und das Sediment ausstreichen.

Zum Ausstrich benutzt man am besten Objektträger und zwar, nachdem man sie in der Mitte durchgebrochen hat, sodass sie, ohne umzukippen, in der Cornetschen Pinzette gehalten werden können.

Man lege stets mindestens drei Ausstriche an.

Die Objektträger können nach Vollendung der Färbung ohne Deckgläschen direkt mit der Ölimmersion untersucht werden.

Man muss stets ausgedehnte Flächen ausstreichen und untersuchen, da sonst vereinzelte Bazillen entgehen könnten.

Wenn nur spärlich Bazillen vorhanden sind, ist die Gefahr vorhanden, dass man dieselben im einfachen Ausstrich nicht findet, man muss dann ein Anreicherungsverfahren verwenden, von denen eine grosse Reihe angegeben sind.

Die Methoden nach van Ketel, Nebel, Hempel, Ellermann und Erlandsen, Biedert-Mühlhäuser-Czaplewski, Jochmann, Spengler, Stroschein etc. können nur erwähnt werden.

Kurz besprochen sei hingegen das von Beitzke empfohlene Kombinationsverfahren.

1. Schütteln des Sputums mit der 4fachen Menge 0,2%iger Natronlaugenlösung 1 Minute in einer zugestopften Glasflasche. Sind die muzinartigen grauen Massen nicht gelöst, so muss weiter Natriumlauge zugesetzt und geschüttelt werden. Sollte auch dann Lösung in 5 Minuten nicht eintreten, so muss in einem Porzellangefäss bis zum Kochen unter ständigem Umrühren erhitzt werden.

2. Der Lösung werden 12 Tropfen Phenolphthaleïn zugefügt.

3. Des weiteren wird 5%ige Essigsäure tropfenweise unter ständigem Umrühren hinzugefügt, bis die rote Farbe verschwindet.

Es muss stets gut gemischt werden, denn es darf nicht zu viel Essigsäure zugesetzt werden, weil sonst Schleim ausfallen würde.

4. Es wird die doppelte Menge 96%iger Alkohol zugefügt und hiermit zentrifugiert.

5. Von dem Sediment werden Ausstriche angelegt.

Die Anreicherungsverfahren sind in den letzten Jahren weit überholt worden durch das Uhlenhuthsche Verfahren mit Antiformin (einer Mischung von Liq. natr. hypochlor. und liq. natr. caust.).

Zunächst wurde eine Ligroinmethode von Lange und Nitsche empfohlen, sodann die die grösste Bedeutung erheischende Antiforminmethode von Uhlenhuth eingeführt, und diese dann in den verschiedensten Modifikationen beschrieben, so z. B. von Hüne, Lagrèze, Jacobson, Haserodt und Bernhardt, von den letztgenannten Autoren in Kombination mit dem Ligroinverfahren.

Es handelt sich hierbei darum, in tuberkelbazillenhaltigem Material, z. B. Sputum, durch die Behandlung mit Antiformin alles andere, insbesondere alle anderen Bakterien, abzutöten, während die Tuberkelbazillen nicht angegriffen werden. Man muss unter kräftigem Schütteln die Flüssigkeiten mischen und sie sodann in einem Spitzglas sich absetzen lassen. Durch Zentrifugieren oder Behandlung mit Ligroin bezw. mit Hilfe von Alkohol bringt man dann eine Schichtenbildung hervor und benutzt die die Bazillen (wenn solche vorhanden) enthaltende Schicht zu Ausstrichpräparaten.

Auf diese Weise gelingt es, wenn auch nur wenige Tuberkelbazillen vorhanden sind, dieselben nachzuweisen, und zwar nicht nur im Sputum, sondern auch in Flüssigkeiten und in Gewebsstücken. Bei letzteren kann man entweder die Stücke selbst in Antiformin auflösen lassen, oder Gefriermikrotomschnitte herstellen und diese dem Antiformin aussetzen; in letzterem Falle gelingt die Auflösung meist schneller und besser.

So stellt die Antiforminmethode ein Anreicherungsverfahren allerersten Ranges dar und hat alle anderen weit überholt.

Die Methode ist auch insofern noch von Bedeutung, als die Tuberkelbazillen vom Antiformin nicht angegriffen werden und am Leben bleiben, sodass selbst nach der Anreicherung mit Antiformin noch Tierversuche gelingen, nur soll, falls solche beabsichtigt sind, kein zu starkes (über 15 %iges) Antiformin benutzt werden und dasselbe nicht zu lange einwirken.

Von den verschiedenen Verfahren ist das folgende das gebräuchlichste und hat sich auch bei uns stets bewährt:

1. Man vermischt 1 Volumen des zu untersuchenden Sputums mit dem zweifachen Volumen 50 %igen Antiformins in einem Spitzglas, und nach gutem Umschütteln lässt man das Gemisch etwa 1 Stunde stehen, bis vollständige Auflösung, d. h. ein homogenes, gleichmäßiges, leicht getrübtes Aussehen eingetreten ist.

2. Nach Zufügen etwa des gleichen Volumens Wasser oder 96 %igen Alkohols (letzteres sehr zu empfehlen) wird zentrifugiert.

3. Von dem Sediment werden Ausstrichpräparate angelegt, am besten, damit dieselben gut haften, indem man eine Spur des ursprünglich zu untersuchenden Sputums zusetzt.

Steht, wie bei Geweben, kein ursprüngliches Sputum zum Aufkleben auf Objektträger zur Verfügung, so nimmt man eine minimale Spur Eiweiss zur Befestigung am Objektträger.

Die Ausstriche werden nach den unten zu beschreibenden Methoden gefärbt.

Es gelingt auf diese Weise häufig, Tuberkelbazillen zu finden in Fällen, in denen sie mit keiner anderen Methode zum Vorschein kommen.

II. Färbung der Tuberkelbazillen in Ausstrichpräparaten.

1. Methode von Koch-Ehrlich.

1. Färben der Ausstrichpräparate mit Anilinwasser-Fuchsin oder Anilinwasser-Methylviolett unter allmählichem Erwärmen, bis Dampf aufsteigt, am besten mit Hilfe der Cornetschen Pinzette, und dann noch Einwirkenlassen der Farbflüssigkeit bis zum Erkalten; öfteres Wiederholen dieser Erwärmung, im ganzen 3—5 Minuten.

2. Differenzieren in 33 %iger Salpetersäure $1^1/_2$—2 Minuten.

3. Auswaschen in 70 %igem Alkohol, bis das Präparat hellrot erscheint, 3—5 Minuten.

4. Nachfärben in wässeriger Methylenblaulösung (bei Vorfärbung mit Fuchsin, mit Bismarckbraunlösung bei Vorfärbung mit Methylviolett), 1—2 Minuten.

5. Wässern.

6. Trocknen, Kanadabalsam.

Die Tuberkelbazillen sind rot bezw. dunkelviolett, andere Bazillen, Kerne etc. hellblau bezw. braun gefärbt.

2. Ziehl-Neelsensche Methode.

1. Färben in Karbolfuchsin unter Erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen etc. wie oben, 3—8 Minuten.

2. Abspülen in Wasser.

3. Differenzieren in 25 %iger Schwefelsäure oder 30 %iger Salpetersäure 20—25 Sekunden.

4. Abspülen in 90 %igem Alkohol.

5. Gegenfärben in wässeriger Methylenblaulösung etwa 2 Minuten.

6. Wässern.

7. Trocknen. Kanadabalsam.

Die Färbung gleicht der nach der Koch-Ehrlichschen Methode.

Die Koch-Ehrlichsche Methode ist die sicherste und hat nur den einen Nachteil, dass die mit Anilinwasser bereitete Farbe stets frisch hergestellt werden muss, insofern ist die Ziehl-Neelsensche Methode, da das Karbolwasserfuchsin sich gut hält, handlicher und ist daher die verbreitetere.

Statt des Karbolfuchsins wird das von Hermann empfohlene Kristallviolett von mancher Seite vorgezogen.

Die folgenden Methoden vereinigen die Differenzierung mit der Nachfärbung.

3. Methode von B. Fraenkel:

1. Färben in Anilinwasser-Fuchsin oder Gentianaviolett unter Erwärmen, 1 bis 2 Minuten.

2. Differenzieren in folgender Lösung:

Alkohol abs. 50 ccm,
Wasser 30 ccm,
Salpetersäure 20 ccm,

hierin gesättigte Lösung von Methylenblau oder Bismarckbraun, behandeln mit dieser Lösung 1—2 Minuten.

3. Wässern.

4. Trocknen oder absoluter Alkohol. Kanadabalsam.

4. Gabbetsche Methode.

1. Färben in Karbolfuchsinlösung in der Wärme 1—3 Minuten.

2. Wässern.

3. Differenzieren und Nachfärben in:

Schwefelsäure 25 ccm,
Wasser 75 ccm,
Methylenblau 2 gr,

1 Minute.

4. Wässern.

5. Trocknen, oder absoluter Alkohol evtl. Xylol. Balsam.

Diese Methoden, welche Entfärbung und Nachfärbung vereinigen, sind weit unsicherer und daher nicht zu empfehlen.

Eine sehr gelinde Differenzierung ist der Vorzug der folgenden

5. Methode von Czaplewski.

1. Färben in Karbol-Fuchsinlösung in der Wärme 3 Minuten.

2. Abgiessen der Farbflüssigkeit und Differenzieren in konzentrierter alkoholischer Lösung von gelbem Fluoreszeïn, welche mit Methylenblau gesättigt ist.

Man lässt 6—10 mal die Flüssigkeit auf den Objektträger auftropfen und giesst sie dann langsam ab.

3. Nachfärben in gesättigter alkoholischer Methylenblaulösung.

4. Kurzes Wässern.

5. Trocknen. Kanadabalsam.

6. Spenglersche Pikrinsäuremethode.

Dieselbe soll Bazillen in grösseren Massen darstellen als die meist verwendete Ziehlsche Methode.

Man verfährt bei ihr folgendermafsen:

1. Ziemlich dünn ausstreichen auf Objektträger oder Deckgläschen.

Das zum Ausstreichen verwendete Sputum soll zuvor von etwa 8—10 aus verschiedenen Stellen mittels einer Platinnadel entnommenen Partikelchen auf einem Objektträger gemischt werden.

2. Lufttrocken werden lassen und fixieren des Ausstriches über der Flamme.

3. Färben in Karbolfuchsin unter Erwärmen bis Dämpfe aufsteigen evtl. mehrfach.

4. Abgiessen der Farbe und Aufgiessen von Pikrinsäurealkohol. (Esbachsches Reagens und Alkohol abs. zu gleichen Teilen gemischt.)

Die Prozedur ist 2—3 mal zu wiederholen.

5. Entfärben in 15%iger Salpetersäure, bis das Präparat ganz entfärbt erscheint.

6. Abspülen in 60%igem Alkohol.

7. Kurzes Nachfärben mit Pikrinsäurealkohol als Kontrastfärbung.

8. Abspülen in Wasser, Trocknen zwischen Filtrierpapier und evtl. leicht über der Flamme.

9. Kanadabalsam.

III. Färbung der Tuberkelbazillen in Schnittpräparaten.

Man kann die Koch-Ehrlichsche sowie die Ziehl-Neelsensche Methode anwenden, nur muss man länger färben und zwar bei Brütofentemperatur mehrere Stunden, in der Kälte etwa 24 Stunden. Ich ziehe das letztere Verfahren vor, da hierbei die Schnitte selbst weniger leiden.

Bei der Differenzierung verwendet man am besten den gewöhnlichen Salzsäurealkohol.

Man gelangt dann zu folgender Methode:

1. Färben in Anilinwasser oder Karbolfuchsin bei Zimmertemperatur 24 Stunden.

2. Wässern.

3. Differenzieren in Salzsäurealkohol, bis die Schnitte hellrot gefärbt sind.

4. Wässern.

5. Kurzes Nachfärben in Hämatoxylinlösung, z. B. Weigerts Eisenhämatoxylin.

6. Wässern.

7. Evtl. kurzes Einlegen, (1 Sekunde) in leicht ammoniakalisches Wasser, dann nochmals Wässern.

8. Entwässern in absolutem Alkohol.

9. Xylol (kein Karbolxylol verwenden, welches die Färbung wieder auszieht).

10. Einschliessen in Kanadabalsam.

Man kann auch die Hämatoxylinfärbung der Karbol-Fuchsinfärbung vorausschicken, doch ziehe ich das Umgekehrte vor.

Andere ähnliche Methoden sind von Kühne (Entfärbung mittels Fluoreszeïn in alkoholischer Lösung), von Mallory und Wright etc. angegeben worden.

Die Tuberkelbazillen lassen sich ihrer Fetthülle wegen mit Scharlach R und Osmiumsäure färben, aber nur sehr unsicher und in der Regel nur in grossen Massen, wie in Kulturen.

Über gleichzeitige Färbung von Tuberkelbazillen und elastische Fasern s. Seite 141).

VI. Methoden zur Darstellung besonderer Wuchsformen des Tuberkelbazillus.

Nach neueren Untersuchungen kommt dem Tuberkelbazillus ausser seiner Bazillenform noch eine andere Wucherungsform zu, nämlich diejenige in Form der sogenannten Muchschen Granula. Auch diese Granula, deren Merkmal vor allem darin besteht, dass sie grampositiv sind, sollen noch virulent sein und eine Dauerform des Tuberkelbazillus darstellen.

Die Untersuchungen sind noch nicht abgeschlossen, doch ist es wahrscheinlich, dass man bei allen genaueren Untersuchungen auf Tuberkelbazillen, besonders wenn die gewöhnlichen nach Ziehl färbbaren Bazillen sich nicht finden, auch diese granulierte Form berücksichtigen muss.

Die Granula können in den Tuberkelbazillen gelegen sein, oder sie finden sich frei neben Tuberkelbazillen, oder aber es soll auch Fälle geben, in welchen sich die Muchschen Granula als einzige Form des Erregers vorfinden.

Von den Muchschen Granula sollen Übergänge bestehen zu ebenfalls nur nach der Gramschen Methode färbbaren Stäbchen und von diesen zu den gewöhnlichen nach Ziehl färbbaren Tuberkelbazillen.

Much selbst hat 3 modifizierte Gramsche Methoden zur Färbung seiner Granula angegeben.

1. Von diesen sei hier die Methode III Muchs erwähnt:

1. Färben 24—48 Stunden bei 37° in:
Methylviolett B. N. gesättigte alkoholische (abs. Alk.) Lösung 10 ccm,
2 %iges Karbolwasser 100 ccm.

2. Behandeln mit folgender Jodkalium-Wasserstoffsuperoxydlösung zwei Minuten:
Jodkalium 5 gr,
2 %ige Wasserstoffsuperoxydlösung 100 ccm.

3. Weiteres Differenzieren in absolutem Alkohol.

4. Trocknen. Balsam.

Zum gleichzeitigen Nachweis der nach Ziehl und Gram-Much färbbaren Tuberkelbazillenformen sind folgende Methoden angegeben worden:

2. Methode von Wehrli und Knoll:

Hierbei werden folgende Mischungen benötigt:

Stammlösung I:

Muchsches Violett von folgender Zusammensetzung:

Methylviolett B. N. gesättigte alkoholische Lösung 10 ccm,
2 %iges Karbolwasser 100 ccm.

Stammlösung II:

Fuchsin tabl. 1 gr,
Alkohol absol. 10 ccm,
Aqua dest. 100 ccm.

Beide Lösungen zu gleichen Teilen mischen und filtrieren.

1. Färben hierin über der Flamme bis Blasen aufsteigen 4 Minuten (die Lösung soll stets frisch im Uhrschälchen gemischt werden).

2. Jodieren nach Much (s. oben) 5 Minuten.

3. Differenzieren in 1—2 %igem Salzsäurealkohol bis zu den roten Fuchsinwolken sich die ersten bläulichen Wolken zumischen.

4. Entwässern in absolutem Alkohol, mehrfach wechseln.

5. Xylol. Balsam.

Die Ziehlschen Bazillen sind rot, Muchsche Bazillen als blaue Körnchenreihen, Muchsche Körnchen blau gefärbt, Gewebe leicht rosa dargestellt.

3. Methode von Hatano.

1. Färben in Karbol-Fuchsin bis zur Dampfbildung, dann noch 5 Minuten.
2. Waschen in Wasser.
3. Differenzieren 10—30 Sekunden in 25 %iger Schwefelsäure.
4. Völliges Differenzieren in 75 %igem Alkohol, bis jegliche Farbe verschwunden ist.
5. Färben in Methylenblaulösung 2 Minuten.
6. Wässern.
7. Färben in Anilinwasser-Gentianaviolett, erwärmen bis zur Dampfbildung, dann noch 3—5 Minuten, Abgiessen der Farbflüssigkeit.
8. Jodieren mit Jodjodkaliumlösung 3—10 Minuten. Mit Filtrierpapier trocknen.
9. Entfärben und entwässern in absolutem Alkohol.
10. Xylol oder Toluol. Balsam.

Man kann auch das Gentianaviolett, dann das Jodkalium und dann erst die Ziehlsche Farblösung, also eine umgekehrte Reihenfolge, anwenden.

4. Methode von Weiss.

1. Man färbt 24 Stunden in einem Gemisch von 1 Volumen der Anilinwasser-Methylviolettlösung und 3 Volumen Karbol-Fuchsin.
2. Jodieren mit Lugolscher Lösung 5 Minuten.
3. Differenzieren in 5 %iger Salpetersäure 1 Minute.
4. Differenzieren in 3 %iger Salzsäure 10 Sekunden.
5. Einlegen in Azeton und absoluten Alkohol zu gleichen Teilen bis keine Farbwolken mehr abgegeben werden.
6. Abtrocknen mit Filtrierpapier.
7. Nachfärben in 1 %iger Safraninlösung 5—10 Sekunden.
8. Abspülen mit Wasser.
9. Trocknen. Xylol. Balsam.

Bei diesen Methoden muss man darauf achten, dass sich nicht in dem verwendeten Leitungswasser säurefeste Stäbchen finden (Beitzke).

Bei der Darstellung der verschiedenen Formen des Tuberkelbazillus handelt es sich nach der Auffassung von Wirths darum, dass bei den nach Ziehl färbbaren Substanzen die Fettsäuresubstanzen des Tuberkelbazillus, bei den nach Gram färbbaren die Eiweisssubstanzen des Bazillus gefärbt werden.

So soll sich erst nach Beseitigung der nach Ziehl färbbaren Substanzen der Bazillus in Körnchen, die jetzt nicht mehr nach Ziehl, sondern nur nach Gram-Much färbbar sind, auflösen.

Die oben angegebenen Methoden kann man sowohl an Schnittpräparaten, wie auch an Ausstrichen, welche von Sputum oder von in Formol gehärteten und mit dem Gefriermikrotom geschnittenen Geweben, nach Behandlung mit Antiformin, angelegt wurden, vornehmen.

Die letzte Kombination schützt vor Verwechslung mit anderen Bakterien als Tuberkelbazillen.

Des weiteren kommen Tuberkelbazillen in streptothrixartigem Wachstum vor.

Hierbei gibt die Gram-Weigertsche Methode, sowie die Birch-Hirschfeldsche zur Färbung des Actinomyces (s. dort) gute Resultate.

Besonders zu diesem Zweck angegeben ist folgende Methode von Friedrich und Noeske.

Hierbei benötigt man als Lösungen:

1. Viktorialösung:
   Gesättigte absolut alkoholische Viktoriablaulösung 10 ccm,
   33 %iger Alkohol 80 ccm,
   Anilinöl 1 ccm.
2. Alkalische Methylenblaulösung:
   Gesättigte wässerige Lithioncarbonicumlösung 5 ccm,
   destilliertes Wasser 80 ccm,
   rektifizierter Spiritus 10 ccm,
   gesättigte absolut alkoholische Methylenblaulösung 2 ccm,
3. Saure Methylenblaulösung:
   Gesättigte absolut alkoholische Methylenblaulösung 5 ccm,
   destilliertes Wasser 200 ccm,
   Eisessig 10 Tropfen.
4. Eosinlösung:
   Wasserlösliches Eosin 2 gr.
   destilliertes Wasser 100 ccm.

Das Verfahren ist folgendes:

1. Färben des Schnittes oder Ausstriches unter leichtem Erwärmen und Erkaltenlassen einige Minuten in der Viktoriablaulösung.
2. Behandeln mit Lugolscher Lösung 2 Minuten.
3. Wässern 30 Sekunden.
4. Kurzes Abspülen in 80 %igem Alkohol.
5. Differenzieren in reinem Anilinöl, bis die Farbe fast ganz verschwunden ist.
6. Abspülen in Alkohol.
7. Abspülen in Wasser.
8. Färben in obiger Eosinlösung 2 Minuten.
9. Abspülen in Wasser.
10. Färben in der alkalischen Methylenblaulösung $^1/_2$—1 Minute.
11. Abspülen in Wasser.
12. Färben in der sauren Methylenblaulösung 5—10 Minuten.
13. Entwässern in absolutem Alkohol.
14. Xylol. Balsam.

V. Methoden zur Unterscheidung des Tuberkelbazillus von anderen säurefesten Bazillen.

Da der Tuberkelbazillus nicht als einziger Bazillus die Farbe schwer aufnimmt und dann bei Behandlung mit Säuren festhält, also säure- (und alkohol-) fest ist, sondern auch andere Bazillen, die ihm auch morphologisch durchaus gleichen, dieselben Eigenschaften besitzen, sind Methoden nötig, diese zu trennen.

Hierher gehört vor allem der sogenannte Smegmabazillus, und besonders beim Aufsuchen der Tuberkelbazillen im Urin etc. muss man darauf achten, nicht Täuschungen mit dem Smegmabazillus zum Opfer zu fallen, welche zwar vermindert aber nicht ausgeschlossen sind, wenn man den Urin mit dem Katheter entnimmt.

Auch der früher längere Zeit für den Erreger der Syphilis gehaltene Lustgartensche Bazillus gehört zu diesen Smegmabazillen.

Des weiteren sind hier Pseudotuberkelbazillen, wie der Grasbazillus, der Rabinowitschsche und Möllersche anzuführen.

Zur Unterscheidung dienen vor allem folgende Methoden:

1. Wenn man nach Färbung nach Ziehl-Neelsen ziemlich kräftig mit Salzsäurealkohol differenziert, so sind die Smegmabazillen in der Regel entfärbt, während der Tuberkelbazillus seine Farbe behält.

2. Methode von Gasis.

Gasis fand die Tuberkelbazillen konstant und nur die Tuberkelbazillen alkalifest. Hierauf begründete er eine Methode, bei der sich Eiweisstoffe des Tuberkelbazillus, wahrscheinlich das Nukleïn, färben sollen. Auch eine Granulaform des Tuberkelbazillus soll sich mitfärben, welche wahrscheinlich mit den Muchschen Granula identisch ist. Da sich bei der Gasisschen Methode die Tuberkelbazillen färben, die Smegmabazillen nicht, ist sie besonders zu deren Differentialdiagnose geeignet.

Das Verfahren ist folgendes:

Eosin 5 gr, abs. Alkohol 5 ccm, Aqua dest. 100 ccm.	Hiervon werden 5 ccm mit einem linsengrossen Stück Quecksilberchlorid langsam unter Umschütteln im Reagenzglas gekocht, bis das Quecksilberchlorid ganz gelöst ist. Die Farblösung ist dann heller und im Schwebezustand.

1. Färben hierin in der Wärme das Ausstrichpräparat 1—2 Minuten.
2. Abspülen in Wasser.
3. Differenzieren in:

Natriumhydroxyd 0,5 ccm, Kaliumjodid 1 gr, 50%iger Alkohol 100 ccm	bis die rote Farbe verschwunden ist, und das Präparat weissgrün erscheint.

4. Abspülen in absol. Alkohol.
5. Gründliches Wässern.
6. Gegenfärben 2—3 Sekunden in folgender Methylenblaulösung:
   Methylenblau 1 gr,
   Alkohol absol. 10 ccm,
   Salzsäure $^1/_2$ ccm,
   destl. Wasser 90 ccm.
7. Gründliches Wässern.
8. Trocknen über kleiner Flamme.
9. Kanadabalsam.

Tuberkelbazillen hellrot, alles übrige blau.

3. Methode von Bunge und Trautenroth.

1. Fixieren der Deckglastrockenpräparate in absolutem Alkohol, 3 Minuten.
2. Behandeln mit 5%iger Chromsäure 15 Minuten.
3. Wässern.
4. Färben unter Erwärmen über der Flamme bis zur Dampfbildung in Karbolfuchsin 2 Minuten.
5. Differenzieren in 25%iger Schwefelsäure 3 Minuten.
6. Abspülen in 70%igem Alkohol.
7. Nachfärben in gesättigter absolut-alkoholischer Lösung von Methylenblau 5 Minuten
8. Wässern.
9. Trocknen. Xylol. Balsam.

Jetzt erscheinen nur die Tuberkelbazillen gefärbt, während die anderen säurefesten ihre Färbung abgegeben haben.

4. Methode von Pappenheim.

(Angelehnt an die Methode Czaplewskis unter Ersatz des Fluoreszeïns durch Corallin).

1. Färben in bis zum Sieden erwärmtem Karbol-Fuchsin 2 Minuten.
2. Ablaufenlassen der Farbe und direktes Einbringen in:
   Corallin 1 gr.
   absoluter Alkohol 100 ccm.
   Hierin Methylenblau bis zur Sättigung.
   Zusatz von Glyzerin 20 ccm.

Man bringt diese Flüssigkeit 3—5 mal auf das Deckglas bezw. Objektträger und lässt ablaufen oder man taucht diese 3—5 mal in die Flüssigkeit und lässt ablaufen.

3. Kurzes Wässern.
4. Trocknen. Xylol. Balsam.

Die Tuberkelbazillen sind rot, andere Bazillen, z. B. Smegmabazillen, blau dargestellt.

Zur Darstellung der Lustgartenschen sogenannten Syphilisbazillen sind Methoden von Lustgarten, Giacomi, Doutrelepont und Schütz angegeben worden, welche heute jeder Aktualität entbehren. Die Lustgartensche Methode ist insofern historisch von Bedeutung, als sie die Methode der Reduktion mit hypermangansaurem Kalium und schwefliger Säure als Vorbild des Palschen Verfahrens zur Differenzierung von Markscheidenfärbungen zuerst einführte.

r) Leprabazillus (Armauer-Hansen) ist dem Tuberkelbazillus sehr ähnlich.

Auch er ist säurefest, wenn auch weniger stark als der Tuberkelbazillus und färbt sich im übrigen nach Gram, sowie mit den einfachen Lösungen von basischen Farbstoffen, wodurch er sich vom Tuberkelbazillus unterscheidet.

Des weiteren färbt sich der Leprabazillus auch mit der Ziehlschen Methode und sonst wie der Tuberkelbazillus, jedoch darf man nicht stark differenzieren.

Für Schnittpräparate ist folgende Methode von Baumgarten angegeben worden:

1. Färben in verdünnter Fuchsinlösung (5 Tropfen der gesättigten alkoholischen Lösung auf 5 ccm Wasser) 5—7 Minuten.
2. Entfärben in:
   Salpetersäure 1 Teil,
   absoluter Alkohol 10 Teile, $^1/_4$ Minute.
3. Wässern.
4. Nachfärben mit verdünnter, wässeriger Methylenblaulösung bei Ausstrichen 3 Minuten, bei Schnitten 15 Minuten.
5. Abspülen in Wasser.
6. Trocknen, eventl. Xylol. Balsam.

Leprabazillen sind rot gefärbt; Tuberkelbazillen werden nicht gefärbt (wegen der Kürze der Zeit der Färbung).

C. Spirillen.

Kommabazillus, Vibrio der Cholera asiatica (Koch). Kleine, leicht gekrümmte, plumpe Stäbchen mit einer oder zwei endständigen Geisseln, beweglich. Oft hängen mehrere Kommaformen zu schraubenförmigen Windungen zusammen.

Der Cholerabazillus färbt sich nicht nach der Gramschen Methode, dagegen leicht mit Methylenblau und Fuchsin.

Man färbt am besten mit gesättigter wässeriger Fuchsinlösung, oder in verdünnter Karbolfuchsinlösung und zwar auf Deckgläschen in der Wärme etwa 10 Minuten, oder Schnittpräparate mit Löfflerschem Methylenblau 5—10 Minuten.

Zur Unterscheidung der Choleravibrionen von anderen Vibrionen kommen die Agglutinations- etc. Proben in Betracht.

b) Trichomyceten, Hyphomyceten (Schimmelpilze, Fadenpilze). Blastomyceten (Sprosspilze, Hefepilze).

Als wichtigste Art, für welche besondere Methoden angegeben wurden, muss hier der Actinomycespilz genannt werden, während für die übrigen Trichromyceten die gewöhnlichen Methoden mit Löfflerschem Methylenblau, Karbolfuchsin und, soweit sie sich mit Gram färben (Streptothrixarten), diese Methode in Betracht kommt.

Bei der Darstellung des Actinomyces müssen einerseits das Mycel, andererseits die Kolben zur Untersuchung gebracht werden.

Sehr wichtig ist es, im ungefärbten Präparat event. unter Zusatz von Essigsäure oder Kalilauge zu untersuchen. Es lassen sich dann häufig schon Diagnosen stellen, wenn man die charakteristischen Körnchen zwischen Objektträger und Deckgläschen zerquetscht.

Für Schnitte sind eine grosse Zahl von Methoden angegeben worden.

In der Regel genügen Hämatoxylin-Eosin-Präparate oder vor allem die van Giesonmethode, welche man direkt als die beste Methode zur Darstellung der Kolben ansprechen kann.

Andererseits wird das Mycelium am besten nach der Weigertschen Methode zur Fibrinfärbung (Modifikation der Gramschen Methode) dargestellt.

Nach Benda gibt es allerdings auch Actinomycesarten, deren Mycel sich nicht nach Gram färbt.

Auch die Levaditische Färbung ist nach Benda zur Darstellung des Myceliums geeignet.

Von besonderen Methoden, welche sowohl das Mycel, wie auch die Kolben färben, seien folgende angeführt:

1. Schmorlsche Modifikation der Weigert-Gramschen Methode.

1. Färben der Schnitte nach Weigert-Gram, d h. in Anilinwasser-Methylviolett, Jodieren, Differenzieren in Anilinöl-Xylol.

2. Einlegen der Schnitte aus dem Anilin in absoluten Alkohol 2—5 Minuten.

3. Gegenfärben in dünnem Säurefuchsin (3 Tropfen einer konzentrierten wässerigen Lösung auf 15 ccm Wasser) 3 Minuten.

4. Waschen in Wasser 2 Minuten.

5. Entwässern in absolutem Alkohol Xylol. Balsam.

Das Mycel erscheint dunkelblau, Kolben fuchsinrot, Kerne nicht gefärbt, man kann aber eine vorangehende Färbung derselben mit Bismarckbraun vornehmen.

2. Methode von Bostroem.

1. Färben in Anilinwasser-Gentianaviolett 10—15 Minuten.

2. Direktes Übertragen in Weigerts Pikrokarmin; hierin färben 5—10 Minuten.

3. Gründliches Wässern.

4. Abspülen in absolutem Alkohol, bis die Schnitte rotgelb erscheinen.

5. Aufhellen in Origanumöl, Balsam.

Actinomyces dunkelblau. Kolben rot, Kerne rötlichgelb.

Während die Methode bei menschlicher Actinomycose gute Resultate gibt, soll sie bei der Actinomycose des Rindes oft versagen.

3. Methode von Birch-Hirschfeld.

1. Färben in Hämatoxylin oder Lithionkarmin.

2. Färben in 2%iger Kristallviolettlösung unter mäfsigem Erwärmen 5 Minuten

3. Eintauchen in 0,5%ige alkoholische Pikrinsäurelösung $^1/_2$—1 Minute.

4. Abspülen in absolutem Alkohol, bis der Schnitt blaugrün erscheint $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde.

5. Differenzieren in Origanumöl (wechseln). Xylol. Balsam.

Das Mycel erscheint blau, Kolben etc. sind gelb.

Man kann auch mit Karbol-Fuchsin oder Anilinwasser-Fuchsin vorfärben und zwar zwischen Nr. 1 und 2 (5 Minuten) und sodann in Alkohol abspülen, dann sind die Kolben rot gefärbt.

Nur erwähnt werden können die Methoden von Flormann, welcher sich an die Kühnesche Modifikation der Gramschen Methode (Differenzieren in Fluoreszeïn-Alkohol) hält, sowie eine früher mehr gebrauchte Weigertsche Methode, welche sich zur Färbung einer Lösung von Orseille in einem essigsäurehaltigen Alkohol bedient.

In erster Linie sei nochmals für Schnittpräparate die van Giesonmethode und Weigerts Fibrinmethode empfohlen.

Zu den Hyphomyceten gehören die Schimmelpilze, Mukorineen, Aspergillen und Penicillen, des weiteren das Achorion Schönleinii, der Erreger des Favus, das Trichophyton tonsurans, der Erreger des Herpes tonsurans, das Mikrosporon furfur, der Erreger der Pithyriasis versicolor, sowie das Mikrosporon minutissimum, der Erreger des Erythrasmas der Oberschenkel.

Des weiteren kann hier eingereiht werden der Saccharomyces albicans, der Erreger des Soor.

Die Aspergillen werden am besten mit Hämatoxylin, Vesuvin oder Fuchsin gefärbt.

Im allgemeinen ist für alle diese Pilze das Löfflersche Methylenblau zu empfehlen, auch für Schnittpräparate, wenn man 1—2 Stunden färbt und mit Eosin gegenfärbt. Des weiteren ist auch die Giemsa-Lösung empfehlenswert.

Auch ist es oft wichtig, die Pilze im frischen Präparat zu untersuchen, eventl. unter Zusatz von Kali- oder Natronlauge, welche die Pilze weniger angreift, wobei man oft schon eine Diagnose stellen kann.

Nach Fraenkel ist es empfehlenswert, ein Zerzupfen des Pilzrasens in 50 %igem Alkohol, dem einige Tropfen Ammoniak zugesetzt sind, vorzunehmen und dann in Glyzerin zu untersuchen.

Der Soorpilz färbt sich nach Gram; für Schnittpräparate ist die Gram-Weigertsche Färbung zu empfehlen. Er färbt sich auch leicht mit allen basischen Anilinfarben und kann auch frisch untersucht werden.

Von besonderem Interesse sind noch die oben erwähnten Pilze der Haut.

Für gewöhnlich färben die die Bakterien färbenden basischen Anilinfarben auch die Hornsubstanzen mit, sodass die Bakterien bei Anwendung der gewöhnlichen Färbemethoden nicht deutlich hervortreten würden. Man muss daher einmal die Affinität des Horns zu den Farbstoffen vermeiden, andererseits das Fett den Hautschuppen entziehen.

Entweder man legt in absoluten Alkohol und darauf in Äther zur Entfettung ein und untersucht nach Färbung in Anilinfarben oder man macht direkt nach dem Vorgang von Bizzozero Deckglasabstriche von der Haut, zieht die Deckgläschen durch die Flamme, entfettet sie in Alkohol-Äther und färbt mit Anilinfarben.

Von besonderen Methoden sei diejenige von Boeck erwähnt:

1. Entfetten der Epidermisschuppen in Alkohol-Äther.

2. Färben in Boraxmethylenblau:

5 %ige wässerige Boraxlösung 16 Teile,
konzentrierte, wässerige Methylenblaulösung 20 Teile.
Aqua dest. 40 Teile,
eine halbe bis mehrere Minuten.

3. Einlegen in Wasser, welchem einige Körnchen Resorzin zugesetzt sind, ½ bis 1 Minute.

4. Differenzieren in Alkohol einige Minuten bis zu einer Stunde, oder wenn hierin nicht genügende Entfärbung eintritt, entfärben in einer schwachen Lösung von Wasserstoffsuperoxyd einige Sekunden.

5. Absoluter Alkohol. Xylol. Balsam.

2. Unnasche Methode.

1. Die Hautschuppen werden, mit einem Tropfen Eisessig befeuchtet, zwischen zwei Objektträgern zerrieben, die Objektträger voneinander abgezogen, schnell über der Flamme getrocknet und durch Aufgiessen von Alkohol-Äther entfettet.

2. Färben mit Borax-Methylenblau:

Borax 1 gr,
Methylenblau 1 gr,
Aqua dest. 100 ccm,
½—5 Minuten.

3. Wässern.

4. Xylol. Balsam.

Wenn differenziert werden muss, so nimmt man dies zwischen Nr. 2 und 3 in der Unnaschen Glyzerin-Äthermischung vor.

Statt dessen kann man auch dünne Säuren verwenden.

3. Methode von Malcolm Morris.

1. Entfetten der Deckglaspräparate oder Schuppen mit Alkohol-Äther.

2. Färben in 5%iger Methylviolettlösung in 70%igem Alkohol 5—30 Minuten.

3. Jodieren in Lugolscher Lösung 1 Minute.

4. Trocknen, Differenzieren in Anilinöl, dem 2—4 Tropfen Salpetersäure zugesetzt sind.

5. Auswaschen in Anilinöl.

6. Xylol. Balsam.

Blastomyceten, Hefepilze.

Sie kommen nur sehr selten als für den Menschen pathogen in Betracht.

Sie lassen sich mit basischen Farbstoffen leicht färben, besonders auch mit Löfflerschem Methylenblau oder mit der Giemsaschen Lösung, doch soll man in der Regel mit sehr dünnen Farben arbeiten.

Auch für Schnittpräparate ist Löfflersches Methylenblau verwendbar.

Hier ist folgende Methode von Busse angegeben worden.

1. Färben in Hämatoxylin.

2. Waschen in destilliertem Wasser.

3. Färben in schwacher Karbol-Fuchsinlösung (1 Teil mit 20 Teilen Wasser verdünnt) eine halbe bis einige Stunden.

4. Entwässern in 96%igem Alkohol, eine bis mehrere Minuten.

5. Entwässern in absolutem Alkohol.

6. Xylol. Balsam.

Kerne sind blau, Hefepilze rot dargestellt.

B. Tierische Parasiten.

a) Protozoen.

Hierher gehören die Rhizopoden und unter ihnen besonders die Amöben, dann die Mastigophoren, deren wichtigster Repräsentant die Trypanosomen sind. Hier einreihen können wir die Spirochäten. Des weiteren gehören hierher die Flagellaten, zu denen Trichomonas intestinalis und vaginalis, sowie Lamlia intestinalis gehören.

Wichtig ist besonders bei allen diesen kleinen Lebewesen eine Untersuchung am frischen Objekt, die man am besten in für diese Tiere isotonischer Kochsalzlösung vornimmt und bei der oft heizbare Objekttische vonnöten sind.

Man kann die Untersuchung durch Zusatz von ganz dünner Farblösung erleichtern.

Will man Schnitte herstellen, so härtet man am besten in Sublimat, doch kommt es hierbei sehr leicht zu Schrumpfungen der tierischen Parasiten.

Zu Färbungen eignet sich die van Giesonfärbung eventl. die Biondi-Heidenhainsche Färbung oder die Gramsche, sowie die Giemsamethode.

Im folgenden können nur einige wenige Methoden angeführt werden. Im übrigen sei vor allem auf das »Taschenbuch der mikroskopischen Technik der Protistenuntersuchung von v. Prowazek« (II. Auflage, Leipzig 1909) verwiesen.

Folgende dieser Tierarten bedürfen einer kurzen Besprechung.

I. Die Amöben.

Von ihnen sind die wichtigsten die Dysenterieamöben. Sie müssen aus frisch entleertem Stuhl zur Untersuchung kommen und werden am besten unter Vermeidung allen Druckes im frischen Präparat untersucht. Sie fallen dann durch ihre Beweglichkeit auf.

Des weiteren wird empfohlen. Ausstrichpräparate zu machen und feucht in heisser alkoholischer Sublimatlösung (1 %ige wässerige Sublimatlösung 100 ccm, absoluter Alkohol 50 ccm, Eisessig 5 ccm) 10 Minuten zu fixieren, Sublimatniederschläge in Jodjodkaliumlösung auszuziehen und nach Wasserabspülung in Hämatoxylin (Grenachersches oder Delafieldsches) zu färben, zu wässern, entwässern etc. (nach Jäger).

Oder ebenfalls feuchte Ausstriche in Osmiumsäuredämpfen zu fixieren und in Safranin, Bismarckbraun und dergl. zu färben.

Für Anlegung von Schnittpräparaten fixiert man ebenfalls in obigem Sublimatgemisch oder in Zenkerscher Flüssigkeit bezw. in Flemmingschem Gemisch und wendet Hämatoxylin-Eosin, van Giesonsches Gemisch, Heidenhainsches Eisenhämatoxylin, Safranin oder auch Toloidin, in wässeriger Lösung mit Differenzieren in Orange G (nach Sublimat-Alkoholhärtung) zur Färbung an. Auch Giemsafärbung wird empfohlen.

II. Trypanosomen.

Sie werden zumeist mit dem Blut im frischen Präparat oder auch unter Zusatz von Farblösungen untersucht. Man kann Neutralrot, Brillantkresylblau etc. zusetzen.

Zur Färbung legt man Deckglastrockenpräparate an, wobei besonders dünnes Ausstreichen und vorsichtiges Behandeln derselben nötig ist.

Man fixiert am besten in absolutem Alkohol oder Alkohol-Äther und färbt nach Giemsa etwa $^1/_2$ Stunde, wäscht mit destilliertem Wasser, trocknet etc.

Nach Laveran kann man die Präparate nach Abspülen in Wasser mit 5 %iger wässeriger Tanninlösung auf 1 Minute behandeln und spült dann gründlich in Wasser ab, wodurch dunklere und haltbarere Färbung zustande kommt.

Statt der Giemsaschen Modifikation der Romanowskyfärbung kann man auch die Leishmansche Modifikation anwenden.

Zur Darstellung der undulierenden Membran ist Zusatz von zitronensaurem Natrium zu dem mit einem kleinen Tropfen einer 1 %igen Gelatinelösung etwas eingedickten Blut empfohlen worden (Plimmer).

Für die Darstellung derselben an Ausstrichpräparaten ist Fixation in Osmiumsäuredämpfen (10 Sekunden) anzuraten.

Auch eine Fixation feuchter Ausstriche, wie oben bei den Dysenterieamöben angegeben, wird empfohlen.

Am besten wird hierbei folgende Methode von Giemsa für »nass« fixierte Ausstriche verwendet:

1. Härten in: $^2/_3$ Volumen konzentrierte Sublimatlösung, $^1/_3$ Volumen 80 %iger Alkohol, 1 bis mehrere Tage.
2. Einlegen für 5 Minuten in verdünnte Lugolsche Lösung.
3. Abspülen in Wasser.
4. Einlegen für 5 Minuten in 0,2 %ige Natriumthiosulfatlösung.
5. Gründliches Wässern.
6. Färben nach Giemsa.
7. Wässern.

8. Durchführen ganz kurz durch folgende Flüssigkeiten:
   a) Azeton 95 Teile + Xylol 5 Teile,
   b) Azeton 70 Teile + Xylol 30 Teile,
   c) reines Xylol,
   d) Zedernholzöl.

(Wegen Details siehe im Kapitel Blut.)

Für Schnittpräparate wird Härtung in konzentrierter Sublimatlösung und Färbung in polychromem Methylenblau, sowie Giemsafärbung (Durchziehen durch die Azetonreihe), auch Färbung mit Heidenhainschem Eisenhämatoxylin empfohlen.

III. Spirochäten.

Die Spirochäten werden im Ausstrichpräparat, ähnlich wie die Trypanosomen dargestellt.

Man kann auch eine vitale Färbung mit Methylenblau oder dergl. am besten mit Zusatz von Spuren von Kaliumkarbonat vornehmen.

Am besten färben sie sich mit der Giemsamethode in Ausstrichpräparaten, welche in Methylalkohol, oder absolutem Alkohol, oder nach der Weidenreichschen Methode fixiert sind, oder aber man wendet die Giemsamethode ohne Vorfixierung an.

Für grosse rigide Formen von Spirochäten ist die nasse Ausstrichfixierung mit heissem Sublimatalkohol, wie bei den Amöben angegeben und Nachfixierung ebenfalls wie dort, empfehlenswert.

Für die Darstellung der geisselartigen Anhänge ist die Löfflersche Geisselfärbung zu empfehlen und zwar an stark verdünnten Ausstrichen, welche mit abgekochtem Brunnenwasser hergestellt werden sollen.

Manchmal stellt die Löfflersche Geisselfärbung auch die undulierende Membran dar.

Für die lebenden Spirochäten ist die Beobachtung im Dunkelfeld besonders wichtig.

Für Schnittpräparate stehen in erster Linie die Versilberungsmethoden zur Verfügung.

Die praktisch wichtigste Spirochäte ist die Spirochaete pallida (Schaudinn), auch Trepanema pallidum genannt, der Erreger der Syphilis.

Am allerschnellsten und besten wird die Syphilisspirochäte im frischen Zustand bei Dunkelfeldbeleuchtung aufgesucht, wobei ihre Morphologie am deutlichsten zutage tritt.

Für Ausstrichpräparate müssen sehr dünne Ausstriche verwendet werden.

Um nicht Hautspirillen in die Ausstriche zu bringen, muss man, wenn das Material von der Haut stammt, diese vorher sehr sorgfältig gereinigt haben.

Des weiteren dient zur Untersuchung auf Spirochäten oft Punktionsflüssigkeit von Lymphdrüsen oder sonstiges Material, unter welchem die meisten Spirochäten in den Organen (Leber, Milz, Nebennieren etc.) kongenital syphilitischer Kinder vorhanden sind, sodass diese sich zur Einübung der Methode besonders eignen.

Muss man Blut auf Syphilisspirochäten untersuchen, so empfiehlt es sich nach Noeggerath und Staehelin Blut mit der etwa 10fachen Menge 0,33%iger Essigsäure sofort in der Pipette zu mischen, zu zentrifugieren und hiervon Ausstriche zu machen.

Das Ausstrichpräparat wird am besten in absolutem Alkohol (etwa 10 Minuten) fixiert. Man kann auch Formoldämpfe etwa 15 Minuten auf das feuchte Präparat anwenden, oder das Weidenreichsche Verfahren benutzen.

Unter den zahlreichen Färbemethoden seien die May-Grünwaldsche Methode, Färbungen mit Anilinwasser-Gentianaviolett (Gonder und Hoffmann), mit heissgesättigter Gentianaviolettlösung (Herxheimer und Opificius), sowie mit Nilblau B. R. oder Capriblau (Herxheimer und Hübner), Dahlia (Berger) etc. nur erwähnt.

Zwei Methoden sind ohne jeden Vergleich am meisten in Gebrauch.

1. Die Färbung nach Giemsa in ihren verschiedenen Anwendungsarten.
2. Das Tuscheverfahren nach Burri.

1. Giemsamethode.

Man verfährt ganz so wie auch im Kapitel Blut noch zu besprechen sein wird.

1. Die am besten von Grübler zu beziehende Stammlösung muss in einem weissen graduierten Messzylinder so gemischt werden, dass höchstens 10 Tropfen der Farblösung 10 ccm destilliertem Wasser zugesetzt werden.

Die sehr dünnen Ausstrichpräparate, welche nach Lufttrocknung in absolutem Alkohol (mindestens $^1/_4$ Stunde) fixiert sind, werden mit der ganz frisch bereiteten Mischung sofort übergossen und hierin 10 bis 30 Minuten gefärbt.

2. Es wird kurz in kräftigem Wasserstrahl abgespült, mit Filtrierpapier getrocknet und in Kanadabalsam eingebettet.

Besonders intensive Färbungen werden hervorgerufen, wenn man 5—10 Tropfen einer 1promilligen Kaliumkarbonat-Lösung auf je 10 ccm dem Wasser, zu welchem die Farblösung zugesetzt wird, beimischt.

Die Stammlösung soll in dunklen Tropfflaschen aufbewahrt werden, und man setzt die Lösung am besten tropfenweise unter leichtem Umschütteln in weitem Messzylinder zu.

Das Gefäss muss absolut rein, Spuren von Säuren überhaupt vermieden werden.

Bei der neuen Schnellmethode von Giemsa werden zehn Tropfen der Stammlösung auf je 10 ccm Wasser zugesetzt und hierin über der Flamme, bis leichte Dampfbildung auftritt, dann noch $^1/_4$ Minute ohne zu erwärmen, weiter gefärbt, die Farblösung abgegossen und

sofort eine neue Farblösung aufgegossen, diese noch $^1/_4$ Minute einwirken lassen und dies viermal wiederholt, wobei man das letzte Mal die Farbe 1 Minute einwirken lässt.

Nach kurzem Abwaschen wird dann getrocknet etc.

Des weiteren ist hier erwähnenswert eine

Modifikation der Giemsamethode nach Löffler,

welche Beizen verwendet.

Hier werden folgende Lösungen benötigt:

I. 0,5%ige wässerige Lösung von Malachitgrünkristallen-Chlorzinkdoppelsalz.

II. 0,5%ige wässerige Lösung von Natrium arsenicosum.

III. 0,5%ige wässerige Lösung von reinem Glyzerin.

IV. Giemsalösung.

Das Verfahren ist das folgende:

1. Fixieren der Ausstriche in gleichen Teilen von absolutem Alkohol und Äther 10 Minuten.

2. Auf das in der Cornetschen Pinzette gehaltene Präparat bringt man 3 Tropfen der Arsenlösung (Lösung II) und einen Tropfen der Malachitgrünlösung (Lösung I).

Man erwärmt bis zur Dampfbildung und färbt eine Minute.

3. Abspülen in kräftigem Wasserstrahl.

4. In ein Reagensglas bringt man 5 Tropfen der Glyzerinlösung (Lösung III) und setzt aus einer Tropfflasche 5 bis 10 Tropfen der Grüblerschen Giemsalösung (Lösung IV) hinzu.

Man erhitzt die Flüssigkeit über der Flamme bis zum Sieden, giesst sie heiss über die Deckglastrockenpräparate und färbt hierin 5 Minuten.

5. Abgiessen der Flüssigkeit und Abspülen unter dem Wasserstrahl.

6. Trocknen. Einschliessen in neutralen Kanadabalsam.

Die Spirochäten sind violettrot dargestellt.

Die Glyzerin-Giemsalösung kann man öfters zu Färbungen verwenden.

2. Das Burrische Tuscheverfahren:

Man mischt Pelikantusche 541 (Grübler-Leipzig) 1 Teil mit 9 Teilen Aqua dest., besser aber für den hier in Frage stehenden Zweck mit 1 Teil Aqua dest. Je 10 ccm werden in Reagensgläsern im Autoklaven sterilisiert; sie bleiben dann noch einige Zeit (2 Wochen) stehen zum Absetzen der Verunreinigungen; zum Gebrauch entnimmt man mit der Platinöse einige Tropfen von der Oberfläche der Lösung und bringt sie auf fettfreie (sterile) Objektträger. Bringt man das zu untersuchende Material in diese Tropfen und streicht sie aus, so erscheinen die Spirochäten (und ebenso andere Bakterien) hellleuchtend, gewissermaßen als Negativ auf schwarzem Grund.

Wegen aller Details s. Burri, das Tuscheverfahren, Jena 1909.

Für Schnittpräparate dient die Silberfärbung, welche zuerst im Anschluss an die Methoden van Ermengems, sowie Volpinos und Bertarellis eingeführt wurde.

Die Modifikation dieser Methode von Levaditi ist die allgemein übliche.

Eine neue Modifikation Levaditis unter Verwendung des Pyridins hat nach zahlreichen Erfahrungen, denen wir uns anschliessen können, nicht die Sicherheit seiner Originalmethode.

Auch die Schnittfärbungen mit Giemsa nach Schmorl scheinen keineswegs an Sicherheit an die Levaditische Versilberung der Spirochäten heranzureichen.

Es soll daher nur die Levaditische Originalmethode mitgeteilt werden.

Levaditische Methode.

1. Fixieren dünner, kleiner Gewebsstücke in Formol 24 Stunden.
2. Übertragen in 96%igen Alkohol auf 24 Stunden.
3. Übertragen in destilliertes Wasser, bis die Stücke untersinken.
4. Imprägnation mit $1^1/_2$—3%iger Argentumnitricumlösung (in Aqua dest.) am besten 3 Tage im Brütofen bei 37° in dunkler Flasche.
5. Kurzes Wässern in destilliertem Wasser.
6. Reduzieren 24—48 Stunden bei Zimmertemperatur in:
   Pyrogallussäure 4 gr,
   destilliertes Wasser 100 ccm,
   40%iges Formol 5 ccm.
   Am besten in dunkler Flasche vor Licht geschützt.
7. Wässern.
8. Einbetten in Celloidin oder Paraffin (eventl. Gefrierschnitte). Möglichst dünne Schnitte werden entwässert, in Xylol aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Man kann auch mit Karbol-Thionin 1—2 Minuten nachfärben, dann in absolutem Alkohol entwässern und in Xylol, dem zwei kleine Kristalle von Pikrinsäure zugesetzt sind, aufhellen, sodann in reinem Xylol abspülen und in Kanadabalsam einschliessen. Eine Nachfärbung der Schnitte mit Giemsalösung zur Darstellung der Kerne gelingt auch gut.

Die Levaditische Methode ist im allgemeinen relativ sicher, doch muss man stets zahlreiche Stücke einlegen, da einzelne versagen können.

Die Spirochäten erscheinen ganz schwarz, das Gewebe ist hellgelblich (wenn man nicht gegenfärbt).

Häufig treten besonders in den obersten Schnitten am Rand störende Silberniederschläge ein.

Bindegewebe färbt sich bei dieser Versilberung in der Regel nicht oder nur hellbraun, nicht aber schwarz mit, Nervenfasern nur unvollkommen.

Zuweilen ist es nötig, das Silber aus den Schnitten zu entfernen und diese anders weiter zu behandeln. Um dies zu erreichen, kann man die Schnitte mit Lugolscher Lösung einige Stunden behandeln, dann in Wasser abspülen und mit konzentrierter Natriumthiosulfatlösung bis zur Entfärbung nachbehandeln. Man kann auch eine Entfärbung mittels des Weigertschen Boraxferricyankaliumgemisches herbeiführen.

Weiter ist von Bedeutung die für den Menschen pathogene

Spirochaete Obermeieri (Rekurrensspirille).

Sie färbt sich leicht mit den gewöhnlichen Anilinfarben, sowie mit der Giemsamethode und besonders auch mit der Löfflerschen Modifikation derselben.

Nach Günther legt man fixierte Ausstrichpräparate für 10 Sekunden in 5 %ige Essigsäure, entfernt die Essigsäure durch Wegblasen, hält das Deckgläschen mit der beschickten Seite nach unten einige Sekunden über starke Ammoniaklösung, spült in Wasser ab und färbt mit basischen Farbstoffen, vor allem Anilinwasser-Gentianaviolett, spült sodann wieder in Wasser ab, trocknet und schliesst in Kanadabalsam ein.

Hierbei färben sich die roten Blutkörperchen nicht mit, und die Spirochäten treten deutlicher hervor.

Zur Fixierung wird bei dieser Methode am besten Einlegen des Ausstriches für 5 Minuten in den Thermostaten bei 75 ° verwandt.

Für Schnittpräparate kann man die Levaditische Methode verwenden oder die

Methode von Nikiforoff.

1. Fixieren in gleichen Teilen einer 5 %igen wässerigen Kaliumbichromicumlösung und gesättigter Sublimatlösung in physiologischer Kochsalzlösung.

Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten in Paraffin.

2. Färben in:

konzentrierte wässerige Methylenblaulösung 10 ccm,

1 %ige alkoholische Tropäolinlösung 5 ccm,

1 promillige Ätzkalilösung 2 Tropfen.

Hierin färben 24 Stunden.

3. Wässern.

4. Entwässern in absolutem Alkohol und Äther zu gleichen Teilen.

5. Aufhellen in Bergamotteöl. Xylol. Balsam.

Auch andere Spirochäten lassen sich leicht in ähnlicher Weise färben, d. h. zumeist an Ausstrichen nach der Giemsamethode, an Schnittpräparaten nach der Levaditischen Methode.

Coccidien werden frisch in physiologischer Kochsalzlösung untersucht oder in feuchten Ausstrichen ähnlich wie die Dysenterieamöben.

Auch Schnittpräparate werden am besten ähnlich wie bei den Dysenterieamöben angegeben gefärbt.

IV. Malariaplasmodien.

Zur Untersuchung im frischen Präparat legt man einfach einen Tropfen Blut zwischen Objektträger und Deckgläschen, umrandet mit Wachs oder Paraffin und untersucht evtl. auf dem geheizten Objekttisch.

Unter Umständen kann man auch eine leichte vitale Färbung vornehmen.

Deckglastrockenpräparate untersucht man nach Anlegung in der gewöhnlichen Weise und Fixation in absolutem Alkohol oder Alkohol-Äther.

Um wenige Plasmodien sichtbar zu machen, wird empfohlen, das trockene Deckgläschen in eine Mischung von 2 %igem Formol und $^1/_2$—1 %iger

Essigsäure zu gleichen Teilen einzulegen, wodurch das Hämoglobin ausgezogen wird, sodass sich die roten Blutkörperchen nicht mitfärben.

Zur Färbung dient:

1. Einfache Färbungsmethode nach Manson.

Hierbei bedient man sich folgender Stammlösung:

Methylenblau, med. pur. Höchst 2 gr,
Borax 5 gr,
Wasser 100 ccm,

kochend lösen.

Zum Färben verdünnt man diese Lösung soweit, dass sie im Reagensglas eben durchsichtig ist.

Man färbt 10—15 Sekunden, bis die Präparate mattgrün sind, spült mit Wasser ab, trocknet zwischen Filtrierpapier und untersucht in Zedernholzöl oder Kanadabalsam.

Die Parasiten erscheinen blau, rote Blutkörperchen grünlich, Leukocytenkerne dunkelblau.

Alte Präparate färben sich besser in folgender Lösung:

Methylenblau 1 gr,
kristallisierte Soda 0,2 gr,
Wasser 100 ccm.

10—20 Sekunden färben, Wässern, trocknen, einschliessen.

2. Färbung nach Giemsa (s. Seite 239).

Von allen Modifikationen der Romanowskyfärbung, welch letztere gerade für die Malariaplasmodien von eminenter Bedeutung ist, und welche von Ziemann, Nocht, Laveran, Maurer, Wright, Leishman und vielen anderen studiert wurde, ist die Giemsamethode die bei weitem sicherste.

3. Schnellmethode nach Giemsa (s. S. 239).

4. Löfflersche Modifikation der Giemsamethode (s. S. 240).

Bei spärlichen Parasiten ist es am besten, dicke Ausstriche zu machen und vor der Fixierung bezw. gleichzeitig mit derselben das Hämoglobin auszuziehen, entweder wie oben angegeben nach Ruge mit Formol-Essigsäure oder z. B. nach Ross, indem man vor der Fixierung das Präparat bis zur völligen Lösung der Blutkörperchen in 1%ige wässerige Eosinlösung einlegt, dann fixiert etc.

Empfohlen wird auch das Verfahren der nassen Konservierung, welches die Kernstrukturen besser erhalten soll.

Man mischt dann nach Schaudinn einige Tropfen Blut mit Hermannscher Flüssigkeit, zentrifugiert, wäscht in Wasser ab, setzt einige Tropfen Grenachersches oder Delafieldsches Hämatoxylin hinzu und untersucht in Wasser-Glyzerin oder essigsaurem Kalium (besonders auf achromatische Strukturen), oder nach Durchführung durch die Alkoholreihe und Xylol in Zedernholzöl, oder (besonders für die chromatischen Strukturen geeignet) man fixiert in Sublimatalkohol (s. oben) und verfährt wie oben bei den Amöben angegeben weiter.

Für Schnittpräparate bedient man sich am besten der Fixierung in Sublimatalkohol oder in Hermannschem Gemisch und färbt nach Einbettung in Paraffin mit Hämatoxylin-Eosin oder Eisenhämatoxylin, oder mit Löfflerschem Methylenblau, evtl. unter Kochen und Nachfärbung mit Eosin etc.

Besonders zu empfehlen ist die Färbung Giemsas für Schnittpräparate (s. Seite 239), evtl. in der Sternbergschen Anwendungsweise für Schnitte (s. Seite 271).

Die Malariaplasmodien erscheinen dann blassblau, ihr Chromatin leuchtend rot.

Auch die Schriddesche oder Zielersche Methoden (s. Seite 210) sind gut verwendbar.

Noch zu erwähnen sind hier die Piroplasmen des Blutes, die ganz wie die Malariaplasmodien fixiert und gefärbt werden, am besten auch nach der nassen Fixierungsmethode in Sublimatalkohol und mit Färbung mittels Eisenhämatoxylin.

Auch für die sogenannten Kala-Azarkörperchen ist Sublimat-Alkoholfixierung und nach Behandlung in Jod-Alkohol Färbung mit Safranin, Hämatoxylin-Eosin oder Fuchsin-Methylenblau zu empfehlen. Desgleichen Giemsafärbung.

Anhang.

Negrische Körperchen, Vaccinekörperchen.

Hier sollen die Negrischen Körperchen besprochen werden, deren Parasitennatur zwar noch durchaus fraglich ist, die aber von grösster diagnostischer Bedeutung für die Lyssa (Tollwut) sind.

Man entnimmt das Material am besten dem Mittelabschnitt des Ammonshorns, wo die Körperchen am meisten zu finden sind und fixiert in irgend einer Härtungsflüssigkeit, am besten Sublimat oder Zenkerscher Flüssigkeit, bettet in Paraffin ein und färbt in Methylenblau-Eosin, am besten nach folgender

Methode von Lentz.

1. Härten in Aceton $^1/_2$—$^3/_4$ Stunde bei 37°, Einbetten in Paraffin, Schneiden, Aufkleben, Entparaffinieren in Xylol, Alkohol.
2. Färben in:
   Eosin extra B. Höchst 0,5 gr,
   60%iger Alkohol 100 ccm,
   1 Minute.
3. Wässern.
4. Färben in:
   Gesättigte alkoholische Lösung von Methylenblau B. pat. Höchst 30 ccm,
   0,01%ige Kalilauge 100 ccm,
   (d. h. mit Löfflerschem Methylenblau) 1 Minute.
5. Wässern.
6. Unvollständiges Trocknen mit Filtrierpapier.
7. Differenzieren in absolutem Alkohol, dem auf je 30 ccm 5 Tropfen 1%ige Lösung von Natronlauge in absolutem Alkohol zugesetzt sind, bis die Präparate blassrosa erscheinen.
8. Differenzieren in absolutem Alkohol, dem auf je 30 ccm 1 Tropfen 50%ige Essigsäure zugesetzt ist, bis die Ganglienzellenzüge eben noch als schwachblaue Linien sichtbar sind (bei Ausstrichen bis makroskopisch an dünnen Stellen alles Blau verschwunden ist).
9. Kurzes Abspülen in absolutem Alkohol.
10. Xylol. Balsam.

Der alkalische Alkohol muss vollständig wasserfrei sein, im übrigen kann man Farb- und Differenzierungslösungen öfters benutzen.

Die Negrischen Körperchen sind karmoisinrot, ihre Innenkörper blau, die roten Blutkörperchen zinnoberrot, Ganglienzellen, insbesondere Kerne, hellblau, deren Kernkörperchen schwarzblau gefärbt.

Die Methode lässt sich auch an Ausstrichen von Ganglienzellen der Ammonshörner, welche am besten noch feucht einige Minuten in Methylalkohol fixiert werden, anwenden.

Eine andere Methode mit Methylblau stammt von Mann. Diese ist verarbeitet in der

Methode von Bohne.

1. Wie in der Methode von Lentz.
2. Färben nach Mann in:
   1%ige wässerige Methylblaulösung 35 ccm,
   1%ige wässerige Eosinlösung 35 ccm,
   Aqua dest. 100 ccm,
   1/2—4 Minuten.
3. Abspülen in Wasser (kurz).
4. Abspülen in Wasser und absol. Alkohol zu gleichen Teilen.
5. Einlegen in absol. Alkohol, der auf 30 ccm 5 Tropfen 1%ige Natronlauge enthält, 15—20 Sekunden.
6. Kurzes Abspülen in absol. Alkohol.
7. Einlegen in Leitungswasser 1 Minute.
8. In leicht mit Essigsäure angesäuertes Wasser, 1—2 Minuten.
9. Schnelles Entwässern in absol. Alkohol.
10. Xylol. Balsam.

Ganz neu ist die einfache

Methode von Stützer.

1. Wie oben.
2. Färben des entparaffinierten Schnittes in Löfflerschem Methylenblau (bis zur Durchsichtigkeit in Aqua dest. gelöst) 5—15 Minuten.
3. Differenzieren in 1%iger Tanninlösung 2—5 Minuten.
4. Wässern. Alkohol. Xylol. Balsam.

Die Negrischen Körperchen erscheinen rötlich-violett.

Man kann auch die Giemsasche Methode in ihren verschiedenen Modifikationen verwenden.

Das Heidenhainsche Hämatoxylin, die Bielschowskysche Silberimprägnation etc. heben noch besondere Strukturen der eigenartigen Körperchen hervor.

Hierher gehören weiter die sogenannten

Vaccinekörperchen oder Guarnierischen Körperchen.

Ihre Natur ist noch durchaus fraglich, wahrscheinlich handelt es sich um degenerative Zellzerfallserscheinungen, nicht um Parasiten.

Deckgläschentrockenpräparate werden nach Alkoholfixierung mit Giemsa gefärbt, oder nach Sublimat-Alkoholfixierung mit Heidenhainschem Eisenhämatoxylin, wobei sie sich vollständig schwärzen.

Schnittpräparate härtet man am besten in Zenkerscher, oder Flemmingscher Flüssigkeit, oder in Sublimat-Alkohol und färbt ebenfalls mit Heidenhainschem Eisenhämatoxylin, oder mit Hämatoxylin-Eosin,

Pikrokarmin etc., oder mit dem Ehrlich-Biondischen Gemisch, wobei die Körperchen blau werden, oder mit Safranin-Gentianaviolett-Orange nach Flemming, oder nach Giemsa; man kann auch die Levaditische Methode anwenden.

b. Würmer und Arthropoden.

Hier sollen nur einige wenige Anleitungen gegeben werden, während alle Einzelheiten in den klinischen Lehrbüchern der mikroskopischen Technik nachzulesen sind.

Soll Darminhalt auf tierische Darmparasiten oder Eier untersucht werden, so untersucht man im frischen Präparat mit Verdünnung in Wasser.

Bei Untersuchung von Flüssigkeiten muss man meist zentrifugieren und dann das Sediment untersuchen.

Bandwurmkörper, Glieder, Scolices etc. kann man im frischen Präparat gut erkennen.

Die lamellöse Echinokokkenwand untersucht man an feinen Scherenschnitten; streift man von der Wand ab, so kann man oft Scolices nachweisen.

Evtl. muss man vorher, wenn abgestorbene Echinokokken verkalkt sind, den Kalk mit Salzsäure lösen.

Man kann ausser in Wasser auch in Glyzerin oder Farrantscher Lösung untersuchen.

Chitin lässt sich mikro-chemisch durch Jod-Jodkaliumlösung und Chlorzink nachweisen.

Man bringt zunächst Lugolsche Lösung unter das Deckgläschen und saugt sie mit Filtrierpapier durch, das gleiche nimmt man sodann mit der Chlorzinklösung vor und untersucht in Wasser. Das Chitin ist dann in seiner Innenschicht violett, in seiner äusseren braun gefärbt.

Man kann auch die Würmer in Celloidin oder Paraffin einbetten und schneiden. Zur Härtung kann man Formol, Sublimat, Flemmingsche Lösung etc. verwenden.

Zur Darstellung der Genital- und exkretorischen Organe kann man Berlinerblau injizieren.

Muskeltrichinen weist man am besten an Scherenschnitten oder an Zupfpräparaten nach.

Womöglich entnimmt man das Material dem Zwerchfell, der Zunge oder der Kiefermuskulatur und zwar besonders aus den der Sehne benachbarten Teilen der Muskeln.

Man kann Gefriermikrotomschnitte oder solche vom eingebetteten Objekt anlegen und untersuchen. Man färbt dann mit Hämatoxylin-Eosin etc.

Verkalkte Trichinen müssen erst mit dünner Salzsäure entkalkt werden.

Unter den Arthropoden dient zum Nachweis der Krätzmilbe (Sarkoptes scabiei) und des Demodex folliculorum Untersuchung in physiologischer Kochsalzlösung, Serum oder Glyzerin.

Kapitel XV.

Spezieller Teil. Methoden für die einzelnen Organsysteme und Organe.

A. Blut und blutbildende Organe.

Bei der Untersuchung des Blutes kommen einmal frische Präparate im gefärbten oder ungefärbten Zustande, des weiteren Deckglastrockenpräparate und drittens event. Härtung und Einbettung in Betracht.

Von Knochenmark, Milz, Lymphdrüsen und event. Leber soll man stets gleichzeitig Abstrichpräparate zur frischen Untersuchung, bezw. Deckglastrockenpräparate anlegen und Stücke von Geweben in Fixierungsflüssigkeiten einlegen.

Gerade beim Blut und den blutbildenden Organen kommt es im Hinblick auf die besonders feinen Untersuchungsmethoden auf äusserste Vorsicht in der Behandlung der Objekte bei der Entnahme und später an.

Aus gewissen Erfahrungen ergibt sich, dass z. B. die Fixierungsflüssigkeiten nur mit destilliertem Wasser hergestellt sein dürfen; manche Färbungen misslingen sonst allein schon bei Anwendung gewöhnlichen Wassers. Von dem zu Farblösungen etc. zu gebrauchenden Wasser versteht sich dies von selbst.

Auch ist es gerade hier besonders wichtig, das Material so schnell wie möglich, wenn irgend angängig noch lebenswarm zu entnehmen. Manche Methoden wie die Altmann-Schriddesche stehen und fallen mit dieser Voraussetzung.

Wir teilen dies Kapitel in folgende Unterabteilungen:

I. Entnahme des Materials.

II. Untersuchung desselben im frischen Präparat.

III. Untersuchung im Deckglastrockenpräparat.

IV. Untersuchung im Schnittpräparat.

Für die klinisch wichtigen Kapitel der Bestimmung des Hämoglobingehaltes, sowie der Zählung der Blutkörperchen und der Blutplättchen und spektroskopischen Untersuchungen muss auf die Lehrbücher der klinischen Mikroskopie, sowie insbesondere auf den Naegelischen Teil der hämatologischen Technik von Schridde und Naegeli Jena 1910, und Türk, Vorlesungen über klinische Hämatologie 1904, verwiesen werden

I. Entnahme des Materials.

Frisches Blut wird in der Regel der Fingerkuppe oder dem Ohrläppchen entnommen. Man muss die Haut der Entnahmestelle vorher gründlich mit Seife und Wasser, sowie Sublimat oder Alkohol, bezw. Äther reinigen, dann macht man kleine Einstiche mit einer Nadel oder einem eigens dazu konstruierten kleinen Apparat. Den ersten Blutstropfen lässt man abfliessen und bringt dann einen kleinen Tropfen auf einen Objektträger oder ein Deckgläschen, indem man diese direkt anpresst.

In seltenen Fällen wird auf die Haut ein Tröpfchen Fixierungsflüssigkeit oder Farbflüssigkeit gebracht, und durch diese hindurch gestochen, sodass das Blut sofort in der Flüssigkeit aufgefangen wird.

Während diese Methoden der Blutentnahme mehr in das Bereich des Klinikers gehören und diese hier ebensowenig wie die Vorschriften zur Entnahme grösserer Blutmassen genauer aufgeführt werden können, gehört die Entnahme des Materials aus den blutbildenden Organen direkt in das Bereich des pathologischen Histologen.

Da es auch hier ganz besonders auf möglichst frische Entnahme ankommt, ist operatives Material, wie es vor allem von Knochen und Lymphdrüsen öfters zur Verfügung steht, zum Studium besonders geeignet.

Bei Sektionen kommt es darauf an, dass diese möglichst schnell nach dem Tode ausgeführt werden.

Man entnehme vor der Sektion und wenn diese erst später ausgeführt werden kann, schon möglichst bald nach dem Tode ein Stück eines langen Röhrenknochens, am besten des Femur, und zwar so, dass man ein grösseres Stück an seinen beiden Enden quer durchsägt, das Stück entnimmt und mit dem Meissel aufsprengt.

Von dem so freigelegten Markzylinder entnimmt man Stücke Knochenmark, einmal zu Ausstrichpräparaten, sodann zur Fixierung. Man vereinige beides nicht, damit die zu fixierenden Stücke, bei denen man überhaupt äusserste Vorsicht walten lassen soll, in keiner Weise gequetscht oder sonst irgendwie lädiert werden.

Andere lange Röhrenknochen sägt man zur makroskopischen Inspektion am besten in toto längs durch.

Nach der Sektion, bezw. während derselben entnimmt man sodann noch Knochenmark von Rippen, Wirbeln oder Sternum, Schädel etc.

Kommt es darauf an, das Knochenmark im Zusammenhang mit der Corticalis zu lassen, so sägt man kleine Querstücke des Knochens heraus und härtet sie in toto. Vor der Weiterbehandlung muss dann naturgemäß entkalkt werden.

Von der Milz, Leber etc. schneidet man einerseits auch Stückchen heraus, die man in Fixierungsflüssigkeiten einlegt, fertigt andererseits sofort Abstrichpräparate an.

Bei Tieren entnimmt man das Material am besten noch während das Tier sich in tiefer Narkose befindet, und zwar auch zunächst einen langen Röhrenknochen, den man spaltet und ganz in die Fixierungsflüssigkeit bringt. Nach Tötung des Tieres nimmt man auch Stücke von Leber, Milz, Lymphdrüsen und anderen Knochen.

Man kann auch bei lebenden Tieren Knochen anbohren, Material entnehmen und dann das Loch mit Paraffin verschliessen, welches leicht wieder entfernbar ist.

Das wichtigste also ist, dass man niemals versäume, von allen diesen Organen einmal zur Fixation Stücke einzulegen und zwar hauptsächlich in Formol oder Orthsches Gemisch (s. unten) und ausserdem sofort Ausstrichpräparate herzustellen, welche, wie unten angegeben, weiter behandelt werden sollen.

II. Untersuchung am frischen Material.

Voraussetzung sind hier, wie bei allen Blutuntersuchungen, besonders sorgfältig gereinigte, mit Alkohol und Äther entfettete und durch die Flamme gezogene Objektträger und Deckgläschen.

Man bringt einen Tropfen Blut, wenn es sich um solches handelt, auf den Objektträger oder das Deckgläschen und legt beide aufeinander.

Man achte aber hauptsächlich darauf, dass der Tropfen nicht zu gross ist, sondern eben nur den Spalt zwischen Objektträger und Deckgläschen füllt.

Handelt es sich um Material vom Knochenmark oder von Milz bezw. Lymphdrüsen, so kann man entweder, besonders beim Knochenmark, ein kleines Stückchen Gewebe in physiologischer Kochsalzlösung auf dem Objektträger zerzupfen oder Abstrichpräparate mit dem Messer herstellen.

Diese frischen Präparate haben den Vorzug, oft schon sehr schnell eventl. schon während der Sektion eine Diagnose zu gestatten, so z. B. bei Leukämieen.

Bei der Schätzung der Zahl der Leukocyten muss man stets die Zahl der weissen Blutkörperchen mit der der roten vergleichen, weil ja beide je der Dicke oder Dünne des Ausstrichtropfens nach in den absoluten Werten des einzelnen Gesichtsfeldes natürlich sehr verschieden sind. Eventuell macht man ein Vergleichspräparat vom Blute eines gesunden Menschen.

Die einzelnen Granula der Zellen fallen im ungefärbten Zustand schon erkenntlich auf. Besonders zeichnen sich die eosinophilen durch ihre Grösse und ihren Glanz aus, während die neutrophilen Granula ganz fein erscheinen. Auch die einkernigen Zellen sind durch ihren Kern und die Art des Protoplasmas kenntlich. Die roten Blutkörperchen

und ihre event. Veränderungen sind relativ leicht zu erkennen, desgleichen die Blutplättchen.

Der Geübte kann an dem ungefärbten Präparate schon sehr viel ablesen.

Dass bei der frischen Untersuchung mit enger Blende gearbeitet werden muss, versteht sich dem Seite 4 zufolge Gesagten von selbst.

Ausser den einzelnen Blutzellen kann man im frischen Präparat auch Pigment, sowie Kristalle, vor allem die Charcot-Neumannschen, die eventl. schon im normalen Blut vorhanden, im leukämischen vermehrt sein können (besonders wenn man das Präparat einige Zeit aufhebt), gut studieren.

Will man die Präparate länger aufheben, so umrandet man sie mit Paraffin oder Wachs; man kann auch das Seite 23 beschriebene Verfahren Arnolds anwenden.

Des weiteren ist es oft vorteilhaft, bei der frischen Untersuchung die Methode des hängenden Tropfens im hohl geschliffenen Objektträger (s. Seite 21) zu verwenden.

Die Untersuchung im frischen ungefärbten Objekt wird oft ergänzt und erleichtert, wenn man eine leichte Färbung vor allem der Kerne vornimmt, indem man entweder einen Tropfen Methylenblaulösung oder Neutralrot oder dergl. unter das Deckgläschen eintreten lässt, oder auf den Objektträger zuvor einige feine Spuren der Farbe aufbringt, welche sich dann in der Flüssigkeit lösen und die Zellelemente färben.

Zusatz von Eosin färbt die roten Blutkörperchen schön rot. Man verwendet dann 0,1—0,5%ige wässerige Eosinlösung, bringt sie in der oft beschriebenen Weise an den Rand des Deckgläschens und saugt sie mit Fliesspapier durch.

Eventl. lässt man nachher noch Methylenblau eintreten und hat dann die Kerne blau, die eosinophilen Granula und roten Blutkörperchen rot gefärbt.

Eine Färbung kann man auch so vornehmen, dass man den Objektträger nach dem Verfahren von Pappenheim und Nakanishi mit einer dünnen Schicht einer Anilinfarbe wie Neutralrot, Methylenblau etc. bestreicht und antrocknen lässt. Diese löst sich dann ebenfalls, wenn die Flüssigkeit darauf kommt. Es nehmen sodann die Kerne sowohl der weissen, wie event. der roten Blutkörperchen, als auch zahlreiche Granula die Färbung an.

Die Bewegungen der Leukocyten kann man am besten mittels der von Deetjen angegebenen Methode verfolgen:

Man überzieht den Objektträger mit einer dünnen Schicht 1%igen Agars (durch Kochen gelöst und sofort filtriert), welchem man pro 100 ccm 0,6 gr Kochsalz zugesetzt hat und lässt antrocknen; hierauf bringt man das Deckgläschen.

Auch für die Blutplättchen verwendet man diese Deetjensche Methode, setzt dann aber dem Kochsalzagar noch auf je 100 ccm 5 ccm einer 10%igen wässerigen Lösung von Kaliumdiphosphat und 6—8 ccm einer 10%igen Lösung von metaphosphorsaurem Natrium (Merck) zu.

Man untersucht bei beiden Verfahren auf dem heizbaren Objekttisch.

Zur Darstellung kernhaltiger roter Blutkörperchen dient vor allem die Färbung des frischen Objektes mit Neutralrot, wie oben angegeben.

Zum Nachweis von Glykogen in Leukocyten dient das Jod. Man kann hierbei direkt unter dem Mikroskop beobachten, wenn man nach dem Vorgang von Hirschberg einen kleinen Jodkristall in die Höhlung eines hohl geschliffenen Objektträgers legt und das Deckgläschen mit dem anhängenden Blutstropfen darüber breitet (am besten unter leichtem Erwärmen). Man kann auch die Ehrlichsche Jodgummimethode benutzen.

Fett kann man durch Zusatz von Kalilauge oder von einem Tropfen Scharlach R darstellen.

Statt der oben erwähnten Kochsalzlösung als Zusatzflüssigkeit zu blutkörperchenhaltigen frischen Präparaten (Wasser ist wegen seiner Schädigung der Zellen durchaus zu vermeiden) kann man auch folgende Flüssigkeiten verwenden:

1. Blutserum derselben Tierart, wobei man auch noch Farbe wie oben angegeben, zusetzen kann.
2. Ganz hellgelbe, also stark verdünnte Jodjodkaliumlösung.
3. Hayemsche Flüssigkeit von folgender Zusammensetzung:
   Sublimat 0,25 gr,
   Kochsalz 0,5 gr,
   schwefelsaures Natrium 2,5 gr,
   destilliertes Wasser 100 ccm.

Man kann die Präparate auch nachträglich in Osmiumsäure oder dergl. härten, so z. B. auch die nach dem Deetjenschen Verfahren (s. oben) hergestellten Agarpräparate, indem man 1%ige Osmiumsäure unter das Deckglas fliessen lässt. Man hebt dann das Deckglas ab, und wenn die Blutelemente fixiert sind, kann man eine Färbung z. B. mit Hämatoxylin-Eosin vornehmen.

Zur Untersuchung von Blutplättchen kann man einen Tropfen Blut direkt in der Fixierungsflüssigkeit, indem man sie auf die Haut aufbringt, auffangen. Auch hier ist 1%ige wässerige Osmiumsäurelösung eventl. verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung zu empfehlen.

Man kann dann auch Farblösungen, z. B. verdünnte Lösung von Methylviolett in physiologischer Kochsalzlösung, verwenden.

III. Deckglastrockenpräparate.

Bei der Untersuchung im Deckglastrockenpräparat können wir folgende Hauptpunkte unterscheiden:

1. Herstellung der Deckglastrockenpräparate.
2. Fixierung derselben:
   a) Lufttrockener Präparate.
   b) Feuchter Präparate.
   c) Nach der Weidenreichschen Methode.
   d) Fixierung gleichzeitig mit der Färbung.
3. Färbungen der Deckglastrockenpräparate:
   a) Übersichtsbilder.
   b) Färbungen auf spezifische Granula.
   c) Färbungen auf besondere Elemente.

1. Herstellung der Deckglastrockenpräparate.

In der Regel fertigt man die Ausstrichpräparate an Deckgläschen an, jedoch kann man auch Objektträger verwenden.

Die Gläser müssen sorgfältig gereinigt, mit Alkohol und Äther fettfrei gemacht und durch die Flamme gezogen sein.

Man bringt einen kleinen Blutstropfen direkt nach der Entnahme auf ein Deckgläschen möglichst direkt von der Haut aus und legt nun auf dieses Deckgläschen mit dem Blutstropfen ein zweites Deckgläschen darauf, wobei man beide Deckgläschen möglichst am Rande anfasst, und zwar legt man sie so übereinander, dass die Kanten der beiden Deckgläschen sich schneiden. Das Blut breitet sich zwischen beiden in feiner Kapillarschicht aus. Man zieht nun möglichst ohne Druck auszuüben die beiden Deckgläschen sanft voneinander ab, legt sie mit der Blutseite nach oben und lässt sie so liegen, sodass das Blut eintrocknen kann.

Manche ziehen es bei obigen Manipulationen vor, die Deckgläschen mit Pinzetten anzufassen, doch ist die Arbeit mit den Fingern schonender.

Man kann auch den Ausstrich auf einem Objektträger oder Deckgläschen so herstellen, dass man einen Blutstropfen auf das Glas bringt und nun mit der Kante eines zweiten Deckgläschens, oder auch eines Spatels, oder besser eines Stückchens festeren Papiers, z. B. einer Visitenkarte, ausstreicht.

Sind die Ausstrichpräparate lufttrocken geworden, so kann man sie weiter behandeln (s. unten).

Oder man kann sie — aber nur wenn es unbedingt nötig ist, denn die Präparate werden dann weit weniger gut — aber erst wenn sie vollständig trocken sind, in Papier oder einem kleinen Deckgläschen kästchen oder dergl. aufheben. Doch sollen sie dann sofort mit Datum etc. markiert werden.

2. Fixierung der Deckgläschentrockenpräparate.

In der Regel verwendet man solche Ausstriche, welche man zunächst wie oben angegeben an der Luft erst vollständig hat trocken werden lassen, in seltenen Fällen kann man auch die noch feuchten Präparate fixieren oder nach einer besonderen von Weidenreich angegebenen Methode vorgehen; bei mehreren Methoden ist eine besondere Fixation überflüssig, weil die Färbung eine solche besorgt.

Hierdurch kommt folgende Einteilung zustande:

a) Fixierung lufttrockener Ausstriche.

1. Mit absolutem Methylalkohol.

Die Präparate bleiben hierin 10 Minuten, werden dann wieder zum Trocknen an die Luft gelegt und können hierauf gefärbt werden.

Zumeist genügt besonders für sehr dünne Ausstriche eine kürzere Zeit, z. B. 5 Minuten.

Diese Fixation ist als Allgemeinmethode äusserst zu empfehlen, besonders für nachfolgende Färbung nach Giemsa.

Schridde empfiehlt, wenn die Ausstriche von einem fetthaltigen Organ stammen (Fettknochenmark), sie nach der Methylalkoholfixierung $^1/_2$ Stunde in Äther zu stellen, um so das Fett auszuziehen und gute Färbungen zu ermöglichen.

2. Fixierung mittels Hitze.

Am einfachsten und besten geschieht dies mittels einer Kupferplatte. Diese wird so angebracht, dass sie von einem Bunsenbrenner erwärmt wird.

Man erhitzt so lange, etwa $^1/_2$ Stunde, bis an den verschiedenen Stellen der Kupferplatte die Hitze fast konstant geworden ist. Ihre verschiedenen Temperaturen kann man nun auf folgende Weise leicht feststellen:

Man sucht diejenige Stelle, an welcher ein Tropfen Wasser, welcher auf die Platte aufgebracht wird, eben zu sieden beginnt, hier herrscht eine Temperatur von etwa 100°; ein bis zwei cm näher an die Flamme heran kann man eine solche von 120° annehmen; noch weiter an der Flamme und zwar an einer Stelle, wo ein aufgebrachter Tropfen Wasser nicht mehr siedet, sondern im sogenannten sphäroidalen Zustande als Kugel auf der Kupferplatte tanzt und abrollt (Leidenfrostsches Phänomen), kann man eine Temperatur von 140° voraussetzen.

Entweder man wählt diese letzte Stelle — und es wird dies als geeignetster Hitzegrad empfohlen —, legt die Deckgläschen mit der bestrichenen Seite nach unten darauf und lässt sie hier etwa 10 Sekunden liegen, oder aber man wählt die Stelle, wo etwa 120° herrschen und lässt die Deckgläschen hier weit länger, aber für die einzelnen Methoden verschieden lange liegen. So z. B. wenn die Ehrlichsche Triazid-

färbung angewendet werden soll 5—10 Minuten, bei Verwendung der Methylenblau-Eosinfärbung etwa 1 Stunde.

3. Fixierung mit absolutem Alkohol etwa $^1/_2$ Stunde.

Statt des absoluten Alkohols kann man auch Alkohol-Äther zu gleichen Teilen (besonders beim Knochenmark wegen dessen Fettgehalt zu empfehlen) verwenden oder auch Aceton, in letzterem Falle genügen 5 Minuten.

4. Fixierung mit Formol (1:9) oder besser mit Formoldämpfen.

5. Fixierung mit Osmiumsäure, besonders für Färbungen nach Altmann-Schridde, wo diese Fixation noch genauer zu besprechen sein wird.

6. Für seltene Fälle kommen zur Fixierung in Betracht:

Ein Gemisch von absolutem Alkohol-Äther und Sublimat (Gulland), ein Gemisch von Alkohol und in physiologischer Kochsalzlösung gelöstem Sublimat (Durham), Hitzefixation mit nachträglichem Einlegen des trockenen Ausstriches für einen Moment in gesättigte Sublimatlösung mit nachträglichem gründlichem Wässern (Pappenheim), sowie endlich nach Kniejaskow Fixierung für 3 Minuten in einem Gemisch von 1%iger wässeriger Osmiumsäure- und 2%iger alkoholischer Sublimatlösung ana und nachträglichem Wässern 5—10 Minuten in Wasser, dem einige Tropfen Ameisensäure zugesetzt sind.

b) Fixierung feuchter Präparate.

In diesem Falle wird der noch feuchte Ausstrich entweder Formalindämpfen für etwa 5 Sekunden oder Osmiumsäuredämpfen für 2—3 Sekunden ausgesetzt und sodann sofort in absoluten Alkohol gebracht; oder er wird noch feucht in Lösungen von Sublimat, Formol, Formol-Alkohol, Flemmingscher Lösung oder dergl. für etwa 5—10 Minuten eingelegt und sodann gründlich gewässert. Jedoch ist diese Methode keineswegs empfehlenswert.

Gute Resultate (ausser wenn es auf die Darstellung der neutrophilen Granula ankommt) gibt die folgende

c) Methode nach Weidenreich. Man giesst in ein kleines Glasgefäss 5 ccm einer 1%igen Osmiumsäurelösung, welcher 15 Tropfen Eisessig beigefügt sind, ein, und legt den gut gereinigten Objektträger darüber, bedeckt das Ganze mit einer Glasglocke und lässt 2 Minuten stehen, d. h. setzt solange den Objektträger den Osmiumsäuredämpfen aus.

Sofort bringt man nun einen Blutstropfen auf die Seite des Objektträgers, welche den Osmiumsäuredämpfen ausgesetzt war, streicht ihn hier aus und setzt den beschickten Objektträger wie oben beschrieben auf eine weitere Minute den Osmiumsäuredämpfen aus.

Nunmehr zieht man den Objektträger ganz kurz 5 mal durch die Flamme und giesst nach dem Erkalten eine ganz dünne leicht rote Lösung von hypermangansaurem Kalium für etwa 1 Minute auf ihn, wässert sodann und trocknet mit Filtrierpapier.

d) Manche Färbungen, unter welchen vor allem die Jennersche und Leishmansche zu nennen sind, bedürfen einer besonderen

Fixierung nicht, da der in den Farblösungen enthaltene Alkohol auch die feuchten Präparate sofort fixiert (besser lässt man sie aber erst lufttrocken werden).

Was die Wahl der Fixierungsmittel anlangt, so ist für Triazidfärbung Hitzefixation, für Altmann-Schriddesche Färbung Osmiumsäurefixation, sonst fast stets Methylalkoholfixation am meisten zu empfehlen.

3. Färbungen der Ausstrichpräparate.

Bevor auf die einzelnen Färbungsmethoden eingegangen werden soll, wollen wir hier kurz eine Übersicht über die verschiedenen Zellformen des Blutes und deren Charakteristica, insbesondere Granula, geben.

1. Leukocyten und ihre Vorstufen.

α) Myeloblasten.

Sie besitzen nach Altmann darstellbare Chondriokonten aber keine gröberen Granula, stellen Stammzellen der Leukocyten dar, haben einen runden, ziemlich grossen Kern und werden am besten mit Methylgrün-Pyronin oder mit der Giemsa- bezw. Azur II -Eosinmethode (nach Schridde) gefärbt.

β) Myelocyten.

Sie gleichen den vorigen, enthalten aber Granula und zwar verschiedener Art.

1. neutrophil gekörnte (Vorstufen der neutrophilen Leukocyten), welche am besten mit der Giemsamethode oder mit der Triacidmethode gefärbt werden, oder
2. eosinophil gekörnte (Vorstufen der eosinophilen Leukocyten), welche sich mit den genannten Färbungen und ebenso auch bei einfacher Hämatoxylin-Eosinfärbung rot darstellen, besonders leuchtend in letzterem Falle und endlich
3. basophil gekörnte (Vorstufen der Mastzellen), welche bei der Giemsa- und May-Grünwald-Methode dunkelblau gefärbt erscheinen und besonders mit polychromem Methylenblau und zwar dann metachromatisch rot dargestellt werden. Die Mastzellengranulationen sind in Wasser löslich, man soll daher in Alkohol fixieren.

γ) Leukocyten.

Sie enthalten ebenfalls

1. neutrophile, oder
2. eosinophile, oder
3. basophile Granula (Mastzellen)

und zeichnen sich vor den Myelocyten dadurch aus, dass sie nicht einen runden, sondern einen fragmentierten Kern enthalten und daher auch als polymorphkernige (oft polynukleär genannte) Leukocyten bezeichnet werden.

Die eosinophilen Granula sind weit gröber als die neutrophilen. Ihre Färbungen entsprechen den oben angegebenen.

2. Lymphocyten und ihre Vorstufen.

α) Lymphoblasten.

Es sind dies grössere runde Zellen mit ziemlich grossem hellem Kern und reichlichem basophilem Protoplasmaleib. Sie werden am besten mit

Azur II-Eosin oder Methylgrün-Pyronin oder nach der Altmann-Schridde schen Methode gefärbt, in welch letzterem Falle an Stelle der bei der ersten Methode erscheinenden hellen, perinukleären Zone plump stäbchenförmige, gelbrot gefärbte Granula zu Tage treten.

Den äusseren Mantel der Zelle bildet eine nur sehr schmale Protoplasmaschicht. Die Zellen enthalten zuweilen mit Azur färbbare Granula.

β) Gewöhnliche Lymphocyten.

Es sind dies kleine runde Zellen mit relativ grossem, rundem, dunkelfärbbarem Kern, welcher von einem schmalen basophilen Protoplasmaleib umgeben wird.

Bei Anwendung der Methylgrün-Pyroninmethode sieht man auch hier den perinukleären hellen Hof; nach der Methode von Altmann-Schridde gewahrt man auch hier die oben genannten Granula. Zudem enthalten die Zellen zuweilen mit Azur färbbare Granula, die aber in Schnittpräparaten nicht darstellbar sind.

Von den sogenannten grossen mononukleären Zellen und den Übergangsformen soll hier abgesehen werden.

γ) Plasmazellen.

Man kann hier mit Schridde solche unterscheiden, welche sich von den Lymphoblasten und solche, welche sich von den Lymphocyten ableiten.

Man färbt sie am besten mit Methylgrün-Pyronin oder mit polychromem Methylenblau, wobei ein leicht scholliges Protoplasma zutage tritt, welches bei der ersten Methode tief rot, bei der zweiten dunkelblau gefärbt ist.

Der Kern zeigt deutliche Radstruktur, um ihn liegt ein besonders deutlicher, heller, perinukleärer Hof.

3. Rote Blutkörperchen und ihre Vorstufen.

α) Basophile Erythroblasten.

Sie enthalten einen Kern, welcher sich bei der Giemsa- bezw. Azur II-Eosin-Methode dunkelblau färbt und ebenso bei der Färbung mit Eosin-Methylenblau. Das Protoplasma ist basophil ohne Granulationen.

β) Hämoglobinhaltige Erythroblasten.

Der Kern ist derselbe wie eben angegeben, jedoch zeigt das Protoplasma reinen Hämoglobinton und färbt sich bei der Giemsamethode grasgrün, mit eosinsaurem Methylenblau rötlich.

γ) Erythrocyten.

Diese reifen roten Blutkörperchen sind kernlos und enthalten Hämoglobin. Ihr Protoplasma färbt sich mit der Giemsa-Methode und mit eosinsaurem Methylenblau, wie eben für die hämoglobinhaltigen Erythroblasten angegeben.

4. Knochenmarkriesenzellen.

Sie enthalten einen besonders grossen vielgestaltigen Kern und weisen mit der Giemsamethode schmutzig violettrot gefärbte Granula im Kern und um ihn herum auf.

Nach Ehrlich unterscheidet man die Leukocyten nach ihrer Granulierung folgendermaßen:

Die α-Granulation stellt die eosinophile oder acidophile dar, welche aus einem Gemisch von sauren, neutralen und basischen Farben die saure Färbung aufnimmt. Die Körnelung ist eine grobkörnige.

Die β=amphophile Granulation lässt sich sowohl mit sauren als mit basischen Farben tingieren.

Die γ-Granulation = basophile (Mastzellen-) Granulation. Für sie ist die Metachromasie mit polychromem Methylenblau (Rotfärbung mit Azur) charakteristisch. Im übrigen färbt sie sich mit allen basischen Farbstoffen.

Die δ-Granulation ist ebenfalls basophil und kommt in den mononukleären Zellen vor.

Die ε-Granulation ist neutrophil und findet sich in den gewöhnlichen polymorphkörnigen oder polynukleären Leukocyten, sowie in den entsprechenden Myelocyten.

Die entsprechenden Zellen bei Tieren färben sich aber nicht neutrophil, sondern eosinophil, die Körnchen sind weit feiner als die typischen eosinophilen Granula und heissen daher beim Tier pseudoeosinophile.

Unter den Färbungsmethoden für Blutausstriche können wir drei grosse Gruppen unterscheiden:

a) Übersichtsbilder, wobei doch zumeist schon die einzelnen Zellarten mit ihren charakteristischen Granulierungen differentiell gefärbt werden.

b) Spezifische Granulafärbungen.

c) Färbungen auf besondere Elemente.

a) Übersichtsbilder.

1. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin.

Man verwendet hierbei sehr gut ein reifes Ehrlichsches Hämatoxylin oder auch Delafieldsches Hämatoxylin und zwar folgendermaßen:

Man fixiert am besten in Methylalkohol, färbt zunächst in $^1/_2$%iger alkoholischer Eosinlösung 3—5 Minuten, spült in Wasser ab, trocknet mit Filtrierpapier, färbt sodann etwa 3—5 Minuten mit Hämatoxylin, wässert, trocknet mit Filtrierpapier und legt das Deckgläschen auf den mit Kanadabalsam beschickten Objektträger.

Oder aber man setzt Ehrlichschem Hämatoxylin 1% Eosin zu, färbt hierin bis 24 Stunden, wässert, trocknet und bettet in Balsam ein.

Es erscheinen dann die roten Blutkörperchen, sowie die eosinophilen Granula rot, die Kerne sind dunkelblau, das Protoplasma ist hellblau oder farblos; besonders die Kerne werden bei dieser Methode schön dargestellt, und wo es auf diese, wie bei den Plasmazellen ankommt — und ebenso bei Darstellung der Lymphocyten — ist diese Methode sehr empfehlenswert.

Hier soll schon bemerkt werden, dass allgemein bei den Färbungen von Deckglastrockenpräparaten eine Entwässerung in absolutem Alkohol und Aufhellung in Xylol nach der Färbung nicht nötig ist, sondern dass man nach dem Wässern die Deckgläschen zwischen Filtrierpapier trocknen und sodann direkt mittels Kanadabalsam dem Objektträger aufkleben kann.

Des weiteren soll hier bemerkt werden, dass es für die meisten Färbungen am besten ist, die Deckgläschen mit der beschichteten Seite nach unten so auf die Farblösung aufzubringen, dass sie auf derselben schwimmen. Es wird dann zumeist auch nur weniger Farblösung benötigt, also sehr an ihr gespart. Zu diesem Zwecke legt man das Deckgläschen am besten in ein kleines Blockschälchen und unterschichtet mit der Farblösung mittels einer Pipette.

2. Methylenblaufärbung.

Man färbt hier mit 1%iger, wässeriger Methylenblaulösung (am besten Methylenblau B. pat. Grübler) einige Minuten oder mit Löfflerschem Methylenblau (s. Seite 204) etwa 10 Sekunden.

Man spült dann in Wasser ab, trocknet und bettet ein.

Zur Fixation empfiehlt sich Methylalkohol oder Hitzefixation. Auch hierbei färben sich die Zellkerne sehr gut, des weiteren basophile Substanzen, so das basophile Protoplasma der Lymphocyten oder basophile Punktierungen in roten Blutkörperchen bezw. die Polychromasie der letzteren. In diesem letzteren Falle werden die sonst hellgrünlich gefärbten roten Blutkörperchen blau gefärbt. Das Protoplasma der Plasmazellen erscheint intensiv blau.

3. Methylenblau-Eosinmethoden.

Hier ist eine grosse Zahl von Methoden angegeben worden, von welchen manche ein Gemisch von Methylenblau und Eosin verwenden, wie die Chenzinskische Lösung, oder diejenige von von Willebrand oder von Michaelis, andere succedan und zwar erst mit Eosin und dann mit Methylenblau färben.

Von diesen Methoden, welche im übrigen durch die gleich unten zu erwähnenden besonderen Methylenblau-Eosinfärbungen weit überholt sind, hat sich nur die auch von Nägeli besonders empfohlene Methode v. Müllerns, weil sie die anderen an Sicherheit übertrifft, erhalten.

Methode v. Müllerns.

1. Fixierung des Ausstriches in Methylalkohol 3 Minuten.

2. Färbung desselben (Schwimmenlassen auf der Lösung) in $^1/_2$%iger Lösung von Eosin in 70%igem Alkohol 3—5 Minuten.

Die Lösung soll nicht zu alt sein.

3. Abspülen in destilliertem Wasser und Trocknen zwischen Filtrierpapier.

4. Färben des Deckgläschens durch Schwimmenlassen $^1/_2$—1 Minute auf folgender Mischung:

Lösung I: $^1/_4$%ige Lösung von Methylenblau B. pat. in Aqua dest.

Lösung II: $^1/_2$%ige Eosinlösung in 70%igem Alkohol.

Kurz vor dem Gebrauch werden 20 Tropfen von Lösung I mit 10 Tropfen von Lösung II gemischt.

5. Ganz kurzes Abspülen in destilliertem Wasser, Trocknen zwischen Filtrierpapier, Einbetten in neutralen Kanadabalsam.

Am besten verwendet man nicht zu alte Präparate.

Die Kerne werden vorzüglich blau, die roten Blutkörperchen und eosinophilen Granula rot, die neutrophilen Granula ebenfalls rot gefärbt.

Während bei den meisten Methoden die Vorfärbung mit Eosin durch das nachfolgende Methylenblau wieder verloren geht, hat diese Methode den Vorzug, dass durch Zusatz von Eosin zu der Methylenblaulösung auch die Eosinfärbung erhalten bleibt.

4. Methode nach May-Grünwald bezw. Jenner mittelst eosinsaurem Methylenblau.

Es handelt sich hierbei nicht um eine einfache Kombination der Eosin- und Methylenblaufärbung, sondern um die neue chemische Verbindung des eosinsauren Methylenblaus und eine Lösung desselben in Methylalkohol.

Dieser neue Farbstoff färbt besonders gut und elektiv, indem der leicht spaltbare Farbstoff bei der Färbung wieder in seine Urbestandteile zurückzerfällt.

Die Methode ist unabhängig voneinander von Jenner und May-Grünwald erforscht worden.

Man bezieht am besten den Farbstoff fertig von Grübler, auch gibt es Tabletten von Borrough, Welcome & Co., welche in 10 ccm Methylalkohol gelöst werden sollen.

Will man die Farblösung selbst herstellen, so geht man folgendermaßen vor:

1 Liter 1 promillige Lösung von Eosin in destilliertem Wasser wird mit 1 Liter 1 promilliger Lösung von Methylenblau med. ebenfalls in destilliertem Wasser gemischt. Man lässt einige Tage stehen und filtriert dann mittels der Saugpumpe. Man wäscht sodann solange nach, bis das Filtrat ungefärbt bleibt und trocknet den Filterrückstand. Letzterer stellt den eigentlichen Farbstoff dar. Man stellt von ihm eine gesättigte Lösung in Methylalkohol her.

Die Lösung hält sich gut verschlossen längere Zeit.

Bei der Färbung verfährt man folgendermaßen:

1. Die getrockneten Ausstrichpräparate werden in einem gut verschlossenen Gläschen 2—3 Minuten in die Farblösung eingebracht.

Eine vorhergehende Fixation ist wegen des Gehaltes der Farblösung an Methylalkohol nicht nötig.

2. Man verdünnt die Farblösung mit demselben Volumen destillierten Wassers und lässt die Ausstrichpräparate noch 10 Minuten darin.

3. Abspülen mit destilliertem Wasser.

4. Trocknen mit Filtrierpapier event. bei gelinder Wärme in der Nähe der Flamme, Einschliessen in neutralen Kanadabalsam.

Die Färbung gelingt am besten, wenn man frische, eben erst trocken gewordene Ausstriche verwendet; sonst, wenn die Ausstriche älter sind und sich schwerer färben, wird empfohlen, zunächst in Methylalkohol 10 Minuten oder länger zu fixieren und sodann in einem Gemisch von 1 Teil der Farblösung und 2 Teilen Aqua dest. bis $^1/_4$ Stunde zu färben.

Die roten Blutkörperchen sind hellrot, die eosinophilen Granula dunkelrot, die Kerne der Leukocyten, der Mastzellen und die Blutplättchen blassblau, die Kerne von Erythroblasten tiefblau gefärbt. Die Mastzellengranula treten besonders scharf tiefblau gefärbt hervor. Die neutrophilen Granula sind fein hellrot gefärbt.

Während die Darstellung der Mastzellengranula und der eosinophilen eine vorzügliche ist, lässt diejenige der neutrophilen Granula wie die Färbung der Kerne oft zu wünschen übrig.

5. Romanowskyfärbung und ihre Modifikationen, insbesondere Giemsafärbung.

Es handelt sich hier um die Verwendung des aus Methylenblau entstehenden Methylenazurs (Rot aus Methylenblau). Besonders wenn man eine Kombinationsfärbung dieses Azurs mit Methylenblau und Eosin verwendet, ergeben sich vorzügliche Färbungen.

Von den früheren Angaben zur Verwendung des Azurs sollen diejenigen von Romanowsky, Nocht, Hastings, Ziemann, Reuter, Michaelis, Laveran, Korck, Scott, Berestneff erwähnt werden.

Von ganz besonderer Bedeutung ist die jetzt allgemein herrschende Methode von Giemsa geworden, welche heute fast alle anderen als obsolet erscheinen lässt.

Giemsafärbung.

Die Lösung enthält Methylenazur, Methylenblau und Eosin in Methylalkohol und Glyzerin gelöst.

Die fertige Lösung wird am besten von Grübler bezogen.

Man verfährt folgendermaßen:

1. Fixation der Ausstriche in absolutem Methylalkohol, am besten ganz frische aber luftrockene Präparate 3 Minuten, ältere 2 Minuten (oder in absolutem Alkohol bezw. Alkohol-Äther ana 20 Minuten).

2. Färben in der stark verdünnten Farblösung (ein Tropfen Farblösung wird je 1 ccm Wasser direkt vor der Färbung zugesetzt, es dürfen keine Farbstoffpartikelchen ausfallen). Hierin färben etwa 10—30 Minuten.

3. Gründliches Wässern in fliessendem Wasser.

4. Trocknen zwischen Filtrierpapier, Einbetten in neutralen Kanadabalsam.

Eine andere Methode Giemsas geht folgendermaßen vor:

1. Wie oben.

2. Einlegen des Objektträgerausstriches in eine trockene Petrischale. Auftröpfeln von 10—15 Tropfen einer mit der gleichen Menge Methylalkohol verdünnten Giemsalösung, für $^1/_2$ Minute.

3. Aufgiessen von 10—15 ccm destillierten Wassers und gleichmäßiges Durchmischen mit der Farblösung. 3—5 Minuten einwirken lassen.

4. Wässern in fliessendem Wasser.

5. Trocknen mit Filtrierpapier, untersuchen in Zedernöl.

Die Kerne erscheinen in der Regel rot, an dickeren Partien mehr bläulich, die eosinophilen Granula rot, die neutrophilen rotviolett, Mastzellengranula violett, unreife basophile blau.

In den Lymphocyten ist manchmal Azurgranulation wahrzunehmen. Besteht Polychromasie der roten Blutkörperchen, so färben sie sich blau, ebenso (zuweilen mehr rot) wenn sie basophil punktiert sind.

Dass sich besonders auch Blutparasiten, Spirochäten, Trypanosomen und Malariaplasmodien in ihren feinsten Details mit der Methode färben, ist bereits Seite 236 f erwähnt.

Während im allgemeinen die fertig bezogenen Lösungen vorzüglich färben und wir eine bessere Übersichtsmethode für Kerne, sowie Granulationen als die Giemsamethode nicht besitzen, färben manche Farblösungen schlecht. Derartige Farblösungen sind dann nicht zu verwenden.

Für Spirochäten etc. wird empfohlen, bei der Herstellung der Farblösung zu je 10 ccm noch 1 bis 2 Tropfen einer 1%igen Kalium-Karbonatlösung zuzusetzen. Auch eine Färbung unter leichtem Erwärmen wird empfohlen.

Es kommt bei dieser Methode besonders auf sehr dünne Ausstriche und auf Vermeidung von Niederschlägen an.

Weidenreich empfiehlt die Anwendung der Giemsafärbung nach einer Fixation mittels der von ihm besonders angegebenen Agar-Osmiummethode.

Leishmansche Modifikation der Romanowskyfärbung.

Man bezieht auch hier die Lösung am besten von Grübler oder das Pulver von Grübler bezw. von Burrough, Welcome & Co. und löst es in Methylalkohol auf.

1. Die lufttrockenen nicht fixierten Präparate werden in die Lösung auf 1 Minute gebracht.

2. Man bringt zu der Lösung dasselbe Volumen Aqua dest. und mischt gut (das Wasser fügt man am besten mittels Pipette zu), sodass aber das Deckgläschen oben schwimmen bleibt.

Man färbt hierin weitere 5 Minuten.

3. Abspülen mit Wasser.

4. Trocknen mit Fliesspapier, Einschliessen in Kanadabalsam.

Auch hierbei ist die Färbung ähnlich wie bei der Giemsamethode.

6. Pappenheimsche Kombination der May-Grünwald- und Giemsafärbung.

1. Färben des trockenen Ausstriches in der May-Grünwaldlösung 3 Minuten.

2. Zufügen von etwa 3 Tropfen Aqua dest. und weiteres Färben etwa 3—4 Minuten.

3. Weggiessen dieser Lösung und Übergiessen mit der Giemsalösung; Färben hierin 4—5 Minuten.

4. Gründliches Wässern in Aqua dest.

5. Trocknen zwischen Filtrierpapier, Einbetten in Kanadabalsam.

Bei dieser Methode färben sich zu den nach May-Grünwald färbbaren Dingen auch die neutrophilen Granula der Leukocyten vorzüglich.

7. Triazidfärbung nach Ehrlich.

Die am besten ebenfalls fertig von Grübler zu beziehende Lösung enthält Methylgrün, dessen drei basische Gruppen mit den beiden sauren Farbstoffen Orange G und Säurefuchsin gesättigt sind.

Diese neutrale Verbindung färbt besonders die neutrophilen Granula vorzüglich.

1. Fixieren am vorteilhaftesten mittels Hitze, am besten bei 140° $^1/_2$ Minute.

2. Färben des Deckgläschens (durch Schwimmenlassen auf der Lösung oder durch Aufgiessen auf das Deckgläschen) mittels der Farblösung 5 Minuten.

Die Lösung darf weder geschüttelt noch filtriert werden.

Man nimmt die Flüssigkeit am besten mittels Pipette aus der Flasche heraus.

3. Gründliches Wässern in destilliertem Wasser.

4. Trocknen zwischen Filtrierpapier, Einschliessen in Kanadabalsam.

Diese Methode gibt vorzügliche Übersichtsbilder und ist unerreicht zur Darstellung der neutrophilen Granula.

Die Kerne sind grünblau gefärbt, nicht besonders gut, doch kann man diesem Mangel nachhelfen, indem man noch mit Methylenblau nachfärbt.

Die eosinophilen Granula sind leuchtend kupferrot, die neutrophilen violettrot gefärbt, die roten Blutkörperchen orange; das Protoplasma der Lymphocyten und der grossen mononukleären Zellen, sowie basophile Granula erscheinen ungefärbt.

Am besten gelingt die Methode, wenn man die Ausstriche erst 24 Stunden nach der Herstellung färbt.

Es wird auch empfohlen (Rubinstein) auf einen Objektträger einige Tropfen der Farbflüssigkeit aufzuschichten und hierauf das Deckgläschen zur Färbung schwimmen zu lassen.

Von den Modifikationen der Ehrlichschen Triazidfärbung sei das Triazid von Pappenheim, welches statt Methylgrün Methylenblau enthält, sowie die Methode von Aronson und Philipp erwähnt; letztere enthält eine andere Zusammenstellung von Orange G, Säurefuchsin und Methylgrün.

8. Pyronin-Methylgrünmethode nach Unna-Pappenheim.

Hierbei handelt es sich um zwei basische Farbstoffe, von denen aber Pyronin als der stärkere die basophilen Substanzen rot färbt.

1. Fixation mit Methylalkohol oder Hitze.

2. Färbung am besten mit der von Grübler zu beziehenden Lösung 5—10 Minuten.

3. Gründliches Wässern.

4. Trocknen mit Filtrierpapier, Einschliessen in Kanadabalsam.

Die Lymphocytenkerne sind blaugrün, die Leukocytenkerne mehr violett, die Kernkörperchen schön rot gefärbt. Das basophile Protoplasma der Lymphocyten, sowie der Plasmazellen und bei stärkeren Graden von Polychromasie die roten Blutkörperchen sind intensiv rot gefärbt.

b) Spezifische Granulafärbungen.

I. Eosinophile (azidophile), α-Granulationen.

Dieselben färben sich (am besten nach Fixation in Methylalkohol).

1. Nach der Ehrlichschen Hämatoxylin-Eosinmethode (s. oben).

2. Mit 1%iger wässeriger Eosinlösung oder ½%iger alkoholischer Eosinlösung (Eosin extra Höchst). Färben 5—10 Minuten. (Kerne werden hierbei naturgemäß nicht mitgefärbt) oder mit Nachfärbung der Kerne mit 1%iger wässeriger Methylenblaulösung 1 Minute.

3. Nach folgender Farbmischung:

Eosin 2 gr,
Indulin 2 gr,
Aurantia 2 gr,
Glyzerin 30 ccm;

hierin wird 12—24 Stunden gefärbt, in Wasser abgespült, zwischen Filtrierpapier getrocknet, in Kanadabalsam eingeschlossen.

Die Kerne sind dann blau, rote Blutkörperchen orange, die eosinophilen Granula rot gefärbt.

4. Färbung mit folgender Farblösung:

Gesättigte Lösung von Orange G in Glyzerin 1 Teil.
Glyzerin 2 Teile.

Hierin löst man Eosin und Nigrosin durch langes Schütteln bis zur Sättigung.

In dieser Lösung wird 5—12 Stunden gefärbt, in Wasser abgespült, zwischen Filtrierpapier getrocknet, in Kanadabalsam eingebettet.

Die Kerne erscheinen dann schwarz, die eosinophilen Granula rot.

Zu empfehlen ist des weiteren für die Darstellung der eosinophilen Granulation

5. die May-Grünwald(Jenner)-Färbung.

Zum Unterschied der eosinophilen Granula von den oben genannten bei Tieren vorkommenden (pseudoeosinophilen) tingieren sich erstere nicht nur mit Eosin, sondern auch mit anderen sauren Farbstoffen; färben sich die Granula mit Eosin-Glyzerin, des weiteren auch mit gesättigter Indulin-Glyzerinlösung und mit gesättigter wässeriger Lösung von Orange G, so darf man annehmen, dass es sich um eosinophile Granula handelt.

II. Die β-Granulationen

färben sich, wie oben angegeben, mit sauren und basischen Farben: es bedarf keiner besonderen Angaben.

III. Basophile γ- und δ-Granulationen.

Besonders die γ-Granulationen=Mastzellen färben sich:

1. Nach der Methode von Ehrlich mittels Dahlia (s. Seite 126).

2. Man färbt mit Methylenblau, besonders Löfflerschem oder einer gesättigten alkoholischen Lösung von Thionin 10 Minuten (Wässern, Trocknen, Einschliessen) oder in polychromem Methylenblau (s. Seite 204).

3. Nach der May-Grünwald(Jenner)schen, Leishmanschen oder Giemsa-Methode.

4. Nach der Methode von Westphal.

Man färbt hierbei in folgender Lösung 4 Stunden:

Gesättigte alkoholische Lösung von Dahlia 100 ccm,
Alaunkarmin 100 ccm,
Glyzerin 100 ccm,
Eisessig 20 ccm.

Nach dem Färben wird in Wasser abgespült, zwischen Filtrierpapier getrocknet und in Kanadabalsam eingebettet.

Die Kerne erscheinen blauviolett, die Mastzellengranulation rotviolett.

5. Nach der Methylenblau-Jodmethode nach Türk.

Diese wird folgendermafsen ausgeführt:

1. Fixation in Methylalkohol oder Hitze.

2. Färben in 10%iger Methylenblaulösung, welcher 50%iger Alkohol zugesetzt ist, unter vorsichtigem Erwärmen bis zur Dampfbildung.

3. Erkaltenlassen und ganz kurzes Abspülen in Wasser.

4. Einlegen in Lugolsche Jod-Jodkaliumlösung $^1/_2$ Minute.

5. Ganz kurzes Abspülen in Wasser.

6. Trocknen zwischen Filtrierpapier, Einbetten in Jodgummisyrup von folgender Zusammensetzung:

Jodkalium 3,0 gr,
Jod 1 gr,
Aqua dest. 100 ccm,
Gummi arabicum bis zur Syrupkonsistenz.

Die Mastzellen sind dann ganz schwarz gefärbt (rote Blutkörperchen dunkelgrün).

Die feinen δ-Granulationen, welche hauptsächlich in den mononukleären Übergangszellen gefunden werden, färbt man am besten in gesättigter wässeriger Methylenblaulösung 10—20 Minuten, Abspülen in Wasser, Trocknen zwischen Filtrierpapier, Einschliessen in Balsam.

IV. Die neutrophilen ε-Granulationen

werden am besten mit folgenden Methoden dargestellt:

1. Ehrlichsche Triazidmethode.
2. Giemsafärbung.
3. May-Grünwald(Jenner)-Methode.

Am meisten zu empfehlen sind die beiden ersten Methoden.

V. Die Lymphocyten

zeigen ihre Kerne am besten bei Methylenblau- oder Hämatoxylinfärbung, sowie mit der Azur II-Eosin-Methode (s. S. 270).

Ihr basophiles Protoplasma wird am besten mit Methylenblau, der Pappenheim-Unnaschen Pyronin-Methylgrünmethode oder der Schriddeschen Azur II-Eosin-Methode nachgewiesen.

Zur Darstellung der Azurgranulation dient besonders die Giemsa- eventuell Leishmanfärbung.

Für die in ihnen enthaltenen sonstigen Granulationen wird die Schriddesche Modifikation der Altmannschen Methode benutzt. Speziell für Deckglastrockenpräparate wird sie folgendermaßen vorgenommen:

1. Fixation dünner Ausstriche auf Objektträger in Orthschem Gemisch, 1—2 Stunden.

2. Gründliches Abspülen mit Aqua dest.

3. Einlegen in 1%ige Osmiumsäurelösung unter Lichtabschluss $^1/_2$ Stunde.

4. Kurzes Abspülen in destilliertem Wasser.

5. Färben in Anilinwasser-Säurefuchsinlösung

(Anilinwasser 100 ccm,
Säurefuchsin 20 gr, filtrieren),

indem man eine hohe Schicht der Lösung auf den Objektträger bringt und 5—6mal über der Flamme erhitzt, gerade bis Dämpfe aufsteigen.

Zuletzt lässt man erkalten; man färbt etwa 15 Minuten.

6. Abgiessen der Flüssigkeit und Fortwischen des Farbstoffes um den Schnitt herum, gut mit Filtrierpapier trocknen.

7. Differenzieren mit Pikrinsäurealkohol

(gesättigte Lösung von Pikrinsäure in 96%igem Alkohol 1 Teil, 20%iger Alkohol 7 Teile).

Man wiegt den Objektträger dabei hin und her.

Wird die Differenzierungsflüssigkeit rot, so wird sie fortgegossen und durch neue ersetzt, bis das Präparat hellgelblich erscheint.

8. Abspülen in 96%igem Alkohol, sodann in absolutem Alkohol.

9. Aufhellen in Xylol.

10. Einschliessen in neutralen Kanadabalsam.

Es sind die nach Altmann darstellbaren Granulationen in den verschiedenen Nüancen rot gefärbt (s. Seite 119). Eosinophile Granula sind schwarzrot, neutrophile braunrot, basophile nicht gefärbt.

In den Lymphocyten sieht man in einer perinukleären Zone gelblichrot gefärbte, kurze, stäbchenförmige Granula.

In der Modifikation von Freifeld werden die Ausstrichpräparate sofort in Osmiumsäure fixiert, und die Färbung nur unter ganz leichtem Erwärmen vorgenommen.

Mit dieser Methode wurden in den Myeloblasten besondere Strichelung und Streifen, die diffus im Protoplasma angeordnet sind, sogenannte Chondriokonten, nachgewiesen.

Eine andere nicht zu empfehlende Modifikation der Methode stammt von Butterfield, Heineke, Erich Meyer und Merian.

Bei dieser wird in Flemmingscher Lösung 3—6 Stunden lang fixiert, dann sehr gründlich erst in Brunnenwasser, dann in Aqua dest. abgespült und nach der Färbung wie oben die Differenzierung in der Pikrinsäurelösung zum Teil bei 50—60° (im Paraffinofen) vorgenommen.

VI. Plasmazellen.

Zu ihrer Darstellung sind am wichtigsten die Methoden mit polychromem Methylenblau nach Unna, sowie die Pyronin-Methylgrünfärbung, des weiteren die Giemsafärbung und zum sicheren Nachweis der Radstruktur des Kernes eine gute Kernfärbung (Hämatoxylin).

Wichtig ist noch zur sicheren Unterscheidung der myeloischen Zellreihe (Myeloblasten, Myelocyten, Leukocyten) und der lymphatischen Zellreihe (Lymphoblasten, Lymphocyten) die bereits Seite 121 beschriebene Indophenol-Oxydasereaktion von Winkler-W. Schultze.

Man fixiert dann in 10%igem Formol und verfährt wie Seite 122 angegeben.

Diese Methode ist besonders wichtig zur Unterscheidung der grossen Zellen, welche von der einen Seite als grosse Lymphocyten bezw. Lymphoblasten, von der anderen Seite als Vorstufen der Leukocyten gedeutet werden.

Die Reaktion fällt bei den Zellen der myeloischen Zellreihe positiv, denen der lymphatischen Reihe negativ aus.

VII. Die basophilen Granulationen und die Polychromasie der roten Blutkörperchen wird am besten mit Methylenblau nachgewiesen.

Des weiteren auch nach der Giemsa- oder May-Grünwald-Methode und die Polychromasie auch eventuell mit Triazid.

VIII. Blutplättchen

werden am besten mit der Giemsamethode dargestellt, wobei der sogenannte Innenkörper eine rotviolette Färbung annimmt.

c) Färbungen auf besondere Bestandteile.

I. Glykogen.

Hierzu dienen am Ausstrichpräparat mehrere von Ehrlich angegebene Methoden.

1. Die schon Seite 169 angegebene Methode mit Jodgummi.

2. Einlegen lufttrockener Präparate in ein kleines, gut verschlossenes Glasschälchen, auf dessen Boden Jodkristalle liegen, sodass die Reaktion durch die Joddämpfe herbeigeführt wird. Man schliesst dann in Lävulosesyrup ein.

3. Zollikofer setzt die noch feuchten Blutpräparate den Joddämpfen aus.

4. Eine weitere Methode stammt von Gulland.

Man benutzt folgende Lösung:

Jod 1 gr,
Jodkalium 3 gr,
Aqua dest. 100 ccm,
Gummi arabicum bis zur Syrupkonsistenz.

Einen Tropfen dieser Flüssigkeit bringt man auf den lufttrockenen Ausstrich für 1 Minute.

Die Jodreaktion an den Leukocyten tritt entweder als diffuse Färbung oder als feine Granulation in der ganzen Zelle oder einem Teil derselben, oder als eine grobkörnige Granulierung an der Peripherie der Zelle auf.

Man findet dieselbe bei Anämien, bei Eiterungen, bakteriellen Infektionen, Atmungsstörungen etc.

II. Fett.

Man kann dasselbe mit Osmiumsäure nachweisen, indem man den noch feuchten Ausstrich 24 Stunden in eine 1 %ige Osmiumsäurelösung einlegt, man wäscht dann, färbt eventuell in einer 1 %igen Eosinlösung nach, trocknet zwischen Filtrierpapier und schliesst in Balsam ein.

Da auch andere Substanzen Osmiumsäure reduzieren, muss man ein Kontrollpräparat anlegen, welches man zunächst für 24 Stunden in Alkohol-Äther einlegt und dann in die Osmiumsäure bringt. Handelt

es sich um Fett, so darf die Reaktion infolge der Lösung desselben nicht eintreten. Des weiteren färbt man das Fett mit Sudan III bezw. Scharlach R.

III. Parasiten.

Von den sehr zahlreichen Methoden zur Darstellung der Malariaplasmodien sollen nur diejenigen von Manson (Borax-Methylenblau) Ross, Laporte etc. erwähnt werden.

Von den vielen Modifikationen der Romanowskyfärbung, welche hier besonders geeignet sind, ist heute die Giemsafärbung die vollständig vorherrschende; desgleichen für Trypanosomen und Spirochäten, sowie für die Filaria sanguinis.

Neben der Giemsamethode kommt die Leishmansche Methode in Betracht.

Für die Bakterien kommen die speziellen Methoden in Anwendung.

Im Blutstrom finden sich besonders folgende Bakterien:

Eiterkokken, Pneumokokken, Bacillus pneumoniae, Micrococcus tetragenus, Proteus, Weichselbaumscher Meningokokkus, Diphtherie-, Typhus-, Paratyphusbazillus, Bacterium coli, Tuberkelbazillus, Fränkelscher Gasbazillus und andere Anaëroben, Spirillen des Rückfallfiebers, Spirochaete pallida etc.

Zum Nachweis vereinzelter Parasiten im Blut ist folgende Methode von Stäubli zu empfehlen, bei welcher die roten Blutkörperchen durch Zusatz von Essigsäure zerstört werden, während Bakterien und Parasiten erhalten bleiben. Man verdünnt zu diesem Zwecke einen frischen Blutstropfen sofort, z. B. in der Pipette mit etwa dem zehnfachen Volumen 3%iger Essigsäure, zentrifugiert sodann und macht Ausstriche vom Sediment. Diese kann man nach May-Grünwald oder Giemsa färben. Bei ersterer ist starke Färbung und Differenzierung in Aqua dest. zu empfehlen.

IV. Schnittpräparate.

Von der Entnahme der auf Blut und Blutbildung zu untersuchenden Gewebe, insbesondere auch von dem Knochenmark, war bereits die Rede.

Zur Fixierung ist besonders das Formol oder die Orthsche Flüssigkeit geeignet, des weiteren die Zenkersche Flüssigkeit, weniger die Hellysche (Ersatz des Eisessigs der Zenkerschen Flüssigkeit durch erst beim Gebrauch zuzusetzende 5 ccm 40%iges Formol, hierin fixieren 6 Stunden) zu empfehlen.

Zur Entkalkung wird von Schridde in diesen Fällen besonders ein Formol-Salpetersäuregemisch empfohlen:

Formol 10 ccm,
Aqua dest. 90 ccm,
offic. Salpetersäure 20 ccm.

Die Paraffineinbettung ist hier der Celloidineinbettung, weil erstere dünnere Schnitte gibt, vorzuziehen. Insbesondere für feine Granula ist die Paraffinmethode geeigneter, zumal nur an ihr die Färbung der neutrophilen Granula, sowie die Altmann-Schriddesche Methode gut gelingt.

Bei der Paraffinmethode soll sehr sorgsam eingebettet werden. Schridde empfiehlt die Stücke je $^3/_4$ Stunden in 50%igem, 60%igem, 75%igem, 85%igem und 96%igem, sowie 2—3 Stunden in 100%igem Alkohol zu härten, sie sodann in Zedernholzöl bis zur vollständigen Durchsichtigkeit, dann auf etwa $^1/_2$ Stunde in Chloroform und auf 1—2 Stunden in ein Paraffin von 46—48°. Schmelzpunkt und sodann eben so lange in ein solches von 52—54° Schmelzpunkt zu übertragen.

Handelt es sich um ganz feine Schnitte, so soll man noch auf 1—$1^1/_2$ Stunden in ein Paraffin von 56—58° Schmelzpunkt einlegen und hierin einbetten.

Man darf nur ganz kleine Stückchen wählen.

Handelt es sich um die Darstellung der Altmannschen Granula, so muss das Zedernholzöl vermieden werden, man legt statt dessen direkt in Chloroform oder Toluol ein.

Aufgeklebte Schnitte sollen nach dem Trocknen zur Entfernung des Paraffins mit Toluol oder Xylol behandelt, dann in absoluten Alkohol für 5 Minuten, in 96%igen, 85%igen, 75%igen, 50%igen Alkohol je 2 Minuten, dann in gewöhnliches, sodann in destilliertes Wasser eingelegt werden, um sodann der Färbung unterzogen zu werden.

Zur Färbung von Schnittpräparaten von Blut und blutbildenden Organen dienen besonders folgende Methoden zunächst zu allgemeinen Zwecken:

1. Hämatoxylin-Eosin und van Giesonmethode zur allgemeinen Übersicht und zur Darstellung der Kerne.

2. Methylenblau-Eosinmethoden desgleichen.

3. Fettfärbungen mit Scharlach R (Gefrierschnitte) oder Osmiumsäure.

4. Glykogenfärbungen besonders nach Best.

5. Weigertsche Fibrinmethode.

Hierbei färben sich auch die Russelschen Körperchen, sowie Granula der Plasmazellen, aus welchen jene Körperchen entstehen.

6. Weigertsche Elasticafärbung.

7. Bielschowsky-Methode zur Darstellung des Bindegewebes.

8. Methylgrün-Pyroninmethode nach Unna-Pappenheim (s. Seite 125).

Bei dieser Methode werden die Plasmazellen besonders vorzüglich dargestellt (s. Seite 124).

Des weiteren färbt sich das Protoplasma der Lymphocyten und der Myeloblasten auch rot. Bei den Myeloblasten ist zum Unterschied von den lymphocytären Zellen kein heller perinukleärer Hof vorhanden, sondern das basophile Plasma reicht bis zum Kern.

Die Granula der Mastzellen sind orange gefärbt, die Kernkörperchen rot. Gleichzeitig werden die Bakterien, selbst schwer färbbare, mit dargestellt.

9. Polychromes Methylenblau nach Unna.

Auch hierbei färben sich ausser den Plasmazellen basophile Substanzen und zwar metachromatisch rot, und auch hier werden Bakterien zugleich dargestellt.

10. Indophenolreaktion nach Winkler-W. Schultze (s. Seite 121).

Von besonderen Methoden zur Darstellung der Blutelemente und ihrer Granula kommen folgende besonders in Betracht:

11. Die Ehrlichsche Triacidmethode (s. S. 262).

Sie gelingt in der Regel nur bei in Sublimat gehärteten Objekten.

Man färbt 5 Minuten, spült rasch mit Wasser ab, entwässert schnell in Alkohol, zieht durch Xylol und bettet in Balsam ein. Eventuell ist eine Differenzierung mit sehr stark verdünnter Essigsäure indiziert.

12. Altmann-Schriddesche Methode (s. Seite 119), zur Darstellung der Altmannschen Granula.

13. Giemsamethode für Schnittpräparate nach Schridde, sogenannte Azur II-Eosinmethode.

1. Die Schnitte kommen aus destilliertem Wasser in die Farblösung, die man sich stets frisch so herstellt, dass man zu 1 ccm destilliertem Wasser 2 Tropfen der von Grübler bezogenen Giemsalösung hinzugibt und zusammen schüttelt. Ein Niederschlag darf hierbei nicht ausfallen, sonst ist die Farblösung nicht verwendbar.

Man färbt hierin 20 Minuten.

2. Sorgfältiges Abspülen in destilliertem Wasser und Trocknen mit Filtrierpapier.

3. Entwässern in reinem säurefreiem Azeton $^1/_2$—1 Minute.

4. Aufhellen in säurefreiem Xylol oder Toluol.

5. Einschliessen in neutralen Kanadabalsam.

Die Granula färben sich, wie bei der Giemsamethode angegeben.

Die Kerne färben sich sehr gut mit.

14. Anwendung der Giemsamethode für Schnittpräparate nach Giemsa.

1. Fixieren in:

Konzentrierte wässerige Sublimatlösung 2 Teile,
Alk. absol. 1 Teil,
(eventl. auch in konzentrierter wässeriger Sublimatlösung)

mindestens 2 Tage.

2. Entwässern in steigendem Alkohol. Einbetten in Paraffin. Dünne Schnitte aufkleben, entparaffinieren, absoluter Alkohol, dünnerer Alkohol, Wasser.

3. Einlegen 10 Minuten in:

Aqua dest. 100 ccm,
Jodkalium 2 gr,
Lugolsche Lösung 3 ccm (oder andere Jodlösungen).

4. Kurzes Abspülen in destilliertem Wasser.

5. Einlegen in 0,5 %ige wässerige Natriumthiosulfatlösung 10 Minuten.

6. Abspülen in Leitungswasser 5 Minuten.

7. Kurzes Abspülen in Aqua dest.

8. Färben in frisch verdünnter Giemsalösung (1 Tropfen auf 1 ccm Aqua dest.) 2—12 Stunden eventl. länger, nach $^1/_2$ Stunde wechseln.

9. Abspülen in destilliertem Wasser.

10. Differenzieren und entwässern in:

a) Azeton 95 ccm + Xylol 5 ccm,
b) „ 70 ccm + „ 30 ccm,
c) „ 70 ccm + „ 50 ccm,
d) Xylol pur,
e) Zedernholzöl.

Die Länge der Dauer der einzelnen Bäder richtet sich nach dem gewünschten Differenzierungsgrad.

Man untersucht in Zedernholzöl.

Das Aqua dest. muss ganz säurefrei sein, statt Metallpinzetten muss man solche aus Horn verwenden.

15. Anwendung der Giemsamethode an Schnittpräparaten nach Sternberg.

Man fixiert am besten in Alkohol und legt dünne Paraffinschnitte an.

1. Färben derselben in verdünnter Giemsalösung:

Etwa 0,4—0,5 ccm derselben auf 20 ccm gekochtes destilliertes Wasser.
Man färbt hierin 20—24 Stunden.

2. Abspülen in Aqua dest.
3. Kurzes Differenzieren in $^1/_2$%iger Essigsäure bis der Schnitt rötlich wird.
4. Wässern und Trocknen mit Filtrierpapier.
5. Kurzes Differenzieren und Entwässern in absolutem Alkohol.

Die Schnitte sollen wieder bläulich erscheinen.

6. Xylol. Balsam.

16. Anwendung der May-Grünwald(Jenner)-Methode für Schnittpräparate nach Zieler.

Man härtet im Orthschen Gemisch oder in Zenkerscher Flüssigkeit und bettet in Paraffin ein.

1. Färben in der May-Grünwald-Farblösung 2—3 Minuten.

Die Lösung darf nicht geschüttelt oder filtriert werden; man entnimmt sie am besten mittels der Pipette.

2. Gründliches Abspülen in destilliertem Wasser.

Die Schnitte zeigen einen deutlich rötlichen Farbton. Trocknen mit Filtrierpapier.

3. Einlegen in säurefreies Azeton, in welchem noch etwas blaue Farbwolken abgegeben werden.

4. Aufhellen in reinem säurefreiem Xylol oder Toluol.

5. Einschliessen in neutralen Kanadabalsam.

17. Anwendung der May-Grünwald (Jenner)-Färbung an Schnittpräparaten nach Assmann.

Fixieren in Orthschem Gemisch oder Zenkerscher Flüssigkeit, Einbetten in Paraffin.

1. Auftragen von 40 Tropfen der May-Grünwald-Farblösung auf den Schnitt und färben hierin mehrere Stunden in gut zugedeckter Schale.

2. Übergiessen mit 20 ccm destilliertem Wasser, welches 5 Tropfen einer $1^0/_{00}$igen Kaliumkarbonikumlösung, sowie 5 Tropfen einer $1^0/_0$igen Essigsäurelösung enthält, $^1/_4$ Stunde.

3. Einlegen in 20 ccm destilliertes Wasser mit demselben Essigsäurezusatz solange, bis der rote Eosinton deutlich hervortritt.

4. Sorgfältiges Wässern in destilliertem Wasser, Trocknen mit Filtrierpapier.

5. Kurzes Entwässern in absolutem Alkohol.

6. Xylol, neutraler Kanadabalsam.

Eine ähnliche Modifikation hat Assmann auch für Deckglastrockenpräparate angegeben.

18. Anwendung der May-Grünwald (Jenner)-Färbung am Schnittpräparat nach Fischer.

1. Färben der Schnitte in Alaunkarmin $^1/_2$ Stunde.
2. Kurzes Differenzieren in Salzsäurealkohol.
3. Längeres Wässern in gewöhnlichem Wasser.
4. Kurzes Abspülen in destilliertem Wasser.
5. Färben 1—24 Stunden in folgender Farblösung:
   Aqua dest. 30,0 ccm,
   1 promillige Essigsäure 7 Tropfen,
   May-Grünwaldlösung 60 Tropfen.
6. Kurzes Abspülen in Wasser.
7. Differenzieren in:
   Aqua dest. 150 ccm,
   Eisessig 1—2 Tropfen,

solange bis die neutrophilen Granula deutlich hervortreten. (Kontrolle unter dem Mikroskop.)

8. Abspülen in destilliertem Wasser. Trocknen mit Filtrierpapier.
9. Schnelles Entwässern in absolutem Alkohol oder Azeton.
10. Aufhellen in säurefreiem Xylol oder Toluol.
11. Einbetten in neutralen Kanadabalsam.

Von diesen zur Granulafärbung geeigneten Methoden für Schnittpräparate ist besonders die Pyronin-Methylgrünmethode, sowie die Anwendung der Giemsafärbung nach Schridde und der May-Grünwaldfärbung nach Zieler zu empfehlen.

Die beiden letzteren Methoden haben den Vorzug, ausser den eosinophilen und basophilen Granula auch die neutrophilen Granula zur Darstellung zu bringen.

Bei der Zielerschen Methode färben sich die eosinophilen Granulationen besser, dagegen Kerne weniger gut, bei der Schriddeschen Methode umgekehrt.

Untersuchung von Blut zu gerichtlichen Zwecken.

Es kommt hierbei darauf an, fragliche Elemente als Blutkörperchen oder Blutpigment zu erkennen.

Ist das Blut gut erhalten, so kann man die roten Blutkörperchen des Menschen und der Säugetiere, da sie rund und kernlos sind, von den ovalen kernhaltigen der übrigen Tiere leicht unterscheiden.

Die menschlichen Blutkörperchen sind des weiteren durch ihre Grössenverhältnisse von denen der übrigen Säugetiere unterschieden.

Wenigstens mit Wahrscheinlichkeit kann somit die Diagnose auf menschliche rote Blutkörperchen durch Messung mit dem Mikrometer gestellt werden.

Häufig aber sind die Blutspuren eingetrocknet und lassen sich nicht einfach mit physiologischer Kochsalzlösung ausziehen.

Es werden dann besondere Mazerationsflüssigkeiten empfohlen, besonders folgende:

Virchow:

32 %ige, d. h. konzentrierte Kalilauge.

Puppe:

32 %ige Kalilauge zusammen mit 40 %igem Formol.

Hoffmann-Pacini:

Sublimat 1 gr,
Kochsalzlösung 2 gr,
Glyzerin 100 ccm,
Wasser 300 ccm.

Raissini:

Glyzerin 3 Teile,
konzentrierte Schwefelsäure 1 Teil.

Dragendorf:

Kochsalz 1 gr,
Natrium sulf. 5 gr,
Wasser 94 ccm.

Moser:

Alkohol und Äther ana.

Entweder man schabt von dem Blutflecken etwas ab und bringt es auf dem Objektträger in die Mazerationsflüssigkeit, oder man zerzupft die Gewebe in dieser und untersucht.

Schmorl empfiehlt folgendes Vorgehen, falls eine Isolierung roter Blutkörperchen aus den an den Geweben festhaftenden Flecken nicht gelingt:

Er schneidet ein Stückchen des Fleckens heraus, weicht es in Wasser auf, färbt es in Hämatoxylin, differenziert in Salzsäurealkohol, wäscht gut in Wasser aus, färbt mit 1 promilliger Eosinlösung nach, wäscht wiederum in Wasser aus, behandelt sodann $^1/_2$ Stunde mit Alkohol und bringt das Gewebe wieder in Wasser. Es wird nun fein zerzupft und in Glyzerin untersucht.

Dann gelingt es häufig noch rote Blutkörperchen sowie die Kerne der Leukocyten nachzuweisen, und man kann leicht Dauerpräparate herstellen.

Kann man rote Blutkörperchen nicht nachweisen, so ist es wichtig — und dieser Nachweis ist oft viel sicherer —, den Blutfarbstoff an der Darstellung der Häminkristalle zu erkennen.

Zum Nachweis dieser, auch Teichmannsche Kristalle genannten, Kristalle verfährt man folgendermaßen:

Man nimmt ein kleines Stückchen des zu untersuchenden Gewebes oder eine kleine Abschabung auf einen reinen Objektträger und bringt Eisessig darauf, fügt einen kleinen Kristall Kochsalz oder Natriumjodit dazu und bedeckt mit dem Deckgläschen.

Sodann erwärmt man über der Spiritusflamme bis nach und nach der Eisessig verdampft und lässt langsam erkalten.

Es scheiden sich dann braune Häminkristalle aus, welche in Wasser, Alkohol und Äther unlöslich, in Kalilauge und, wenn auch schwer, in Ammoniak, dünner Schwefelsäure etc. löslich sind und gewöhnlich die Gestalt rhombischer Tafeln haben, oft mehrere zusammen verbunden.

Die eigenartige Farbe zusammen mit der Kristallform, lassen die Diagnose auf Häminkristalle stellen.

Wenn Fett an den Gewebsfetzen klebt, so muss dies erst mit Äther entfernt werden, sonst tritt die Reaktion nicht ein.

Sehr alte Flecken lässt man am besten vor Anstellung der Reaktion 12—24 Stunden in einer kleinen Menge von Essigsäure liegen.

Auf Eisen, Stahl, Sand, Kohle lässt sich die Reaktion in der Regel nicht erzielen (dann soll man eine Lösung des Pigmentes in gesättigter Lösung von Borax herstellen und spektroskopisch untersuchen).

Auch mittels spektroskopischer Untersuchung lässt sich der Blutfarbstoff nachweisen, desgleichen in noch weit sicherem Maße mittels der modernen spezifischen Hämolysin- und Präzipitin-Methoden, sowie mittels der Komplementablenkungsmethode; doch kann auf diese hier nicht eingegangen werden.

B. Zirkulationsapparat.

Um das Herz in frischem Zustande zu untersuchen, fertigt man Zupfpräparate an, nur muss man die einzelnen Muskelfasern durch ordentliches Zerzupfen trennen und eventuell Mazerierungsflüssigkeiten zu Hilfe nehmen.

Gerade an derartig zerzupften Herzmuskelfasern kommt die Seite 148 angegebene Unterscheidung zwischen trüber Schwellung und Verfettung besonders in Betracht.

Auch an Gefässen kann man oft schon an frischen Präparaten Verfettung und dergleichen nachweisen, wenn man die Intima abzieht und als Häutchen untersucht.

Für alle feineren Untersuchungen kommen nur gehärtete Präparate in Betracht.

Zur Härtung empfiehlt sich Formol oder Orthsches Gemisch, unter Umständen Sublimat oder Osmiumsäurelösungen zum Nachweis von Verfettungen. Das meiste kann man an Gefrierschnitten verfolgen; für vieles ist Einbettung nötig.

Hier ist Celloidineinbettung der Paraffineinbettung, bei welcher die Präparate oft zu spröde werden, vorzuziehen.

Bei der Endokarditis und ihren Auflagerungen kommt für Übersichtsbilder die van Gieson methode mit Hämatoxylinvorfärbung, zum Nachweis des Fibrins und gleichzeitig der Bakterien die Weigertsche Fibrinmethode in Betracht. Die meisten in endokarditischen Efflorescenzen vorkommenden Bakterien werden so dargestellt. Nur selten ist Methylenblaufärbung oder dergleichen notwendig. Man kann auf diese Bakterien auch an Ausstrichpräparaten mittels der Gram (Weigert)-schen Methode oder mit Methylenblau untersuchen.

Oft empfiehlt sich auch eine Färbung auf elastische Fasern, also besonders die von Weigert angegebene; bei Verkalkungen kommen die speziellen Kalkfärbungen in Betracht.

Bei den atherosklerotischen Veränderungen der Klappen sind dieselben Methoden anzuwenden.

Für die sogenannten gelben Flecken der Mitralis ist eine der Fettmethoden angezeigt.

Auch bei den Myokarddegenerationen ist eine Färbung auf Fett (Scharlach R) die souveräne Methode.

Eventuelle hyaline Veränderungen zeigen sich im van Gieson-schnitt und lassen sich auch durch die Weigertsche Fibrinmethode schön darstellen.

Nur selten kommt eine Färbung auf Amyloid am Herzen in Betracht.

Das Pigment der braunen Atrophie tritt am deutlichsten an einfachen Karminpräparaten hervor, des weiteren bei Färbungen mit Fettfarbstoffen.

Schwielen im Herzen erscheinen bei van Giesonfärbung leuchtend rot; hier wie bei Myokarditis gibt auch die Mallory-Färbung (S. 133) schöne Bilder; eventl. ist eine Färbung auf elastische Fasern, vor allem, wenn die Schwielen von atherosklerotischen Gefässen abhängen, indiziert.

Zur Darstellung des Reizleitungssystems und seiner Veränderungen werden im allgemeinen Serien benötigt, welche man auch am besten nach van Gieson färbt, eventuell kommt (nach Härtung in absolutem Alkohol) eine Glykogenmethode oder auch in frischen pathologischen Fällen eine Fettmethode in Betracht.

Im Perikard dient eine Färbung auf elastische Fasern sehr gut zur Orientierung, bei den Entzündungen desselben werden oft Fibrinfärbungen benötigt. Auch bei der Untersuchung von Sehnenflecken leistet die Weigertsche Färbung auf elastische Fasern gute Dienste.

Bei den Veränderungen der Gefässe kommen die van Giesonmethode, die Weigertsche Methode auf elastische Fasern und die Dürcksche Methode auf die von ihm beschriebenen Fasern, ferner Methoden für Fett und Kalk, sowie fettähnliche Körper und fettsauren Kalk und bei Thromben die Fibrinmethode in Betracht.

C. Respirationsapparat.

Der Bronchialinhalt kleiner Kinder wird bei Aspiration von Fruchtwasser, Mekonium oder Speisebrei (der gewöhnlich an seinem sauren Geruch erkannt wird), im frischen Präparat (Quetschpräparat) untersucht.

Auch sonst leistet die frische Untersuchung bei der Lunge manchmal schon wertvolle Dienste.

So kann man bei Pneumonie schon auf Abstrichpräparaten Fibrin-Pfröpfe erhalten und nachweisen und bei Verdacht auf Fettembolie die Diagnose rasch in der Weise sichern, dass man von einer geraden Schnittfläche mit einer gebogenen Schere ein kleines Stückchen abschneidet und es zunächst in Kochsalzlösung, sodann mit Zusatz von Kalilauge untersucht.

Um die Luft aus den Alveolen herauszutreiben, kann man die Stückchen zunächst in warmes Wasser legen oder durch Überstreifen des Scherenschnittes mit einem Spatel das gleiche erreichen.

Um Lungenödem nachzuweisen, wendet man am besten die Kochmethode an.

Zur feineren Untersuchung dient auch in der Lunge die Härtung in einer bekannten Fixierungsflüssigkeit; auch hier ist Formol oder Orthsches Gemisch, wenn es auf Fibrin oder Bakterien ankommt auch Alkohol, zu empfehlen.

Man fertigt dann entweder Gefrierschnitte an, welche von der Lunge meist leicht gelingen und sich auch in der Auffangflüssigkeit meist gut ausbreiten, oder man bettet, besonders wenn es auf den Alveoleninhalt, der sonst leicht herausfällt, ankommt, in Celloidin oder auch in Paraffin ein.

Zu allgemeinen Kern-Plasmafärbungen empfiehlt sich auch hier die Eisenhämatoxylin- und van Giesonfärbung.

Bei der Untersuchung von Katarrhen ist häufig eine Darstellung des Schleimes indiziert, bei diphtheritischen Prozessen eine Färbung auf Fibrin und mit Methylenblau auf Diphtheriebazillen.

Liegen eitrige Entzündungen oder Abszesse vor, so werden ebenfalls Bakterienfärbungen anzuwenden sein.

Ausserordentlich vorteilhaft ist in den Lungen sehr häufig eine Färbung auf elastische Fasern, welche die Orientierung durch Darstellung des Septengerüstes stets sehr erleichtert. Bei pneumonischen Prozessen, sowie bei Tuberkulose und insbesondere auch bei Emphysem sollte man diese Färbungsmethode nicht vernachlässigen.

Bei Pneumonieen stellt die Weigertsche Fibrinfärbung gleichzeitig das Fibrin und die Pneumokokken, sowie bei Bronchopneumonieen zumeist auch sonstige Erreger dar.

Das Pigment der braunen Atrophie hebt sich am besten von einfachen Karminfärbungen ab.

Oft ist es zweckmäßig, Eisenreaktionen (sogenannte Herzfehlerzellen) anzustellen.

Bei Schnittpräparaten von Fettembolieen (naturgemäß nur Gefrierschnitte nach Formolhärtung) wendet man Scharlach R an, oder man fixiert in osmiumsäurehaltigen Flüssigkeiten.

Auch bei Erkrankungen, bei welchen zahlreiche Alveolarepithelien abgestossen werden (Desquamnativpneumonie), wende man, da solche Zellen meist stark verfettet sind, Fettfärbungen an.

Bei der Lungentuberkulose kommen ausser Übersichtsfärbungen und solchen auf elastische Fasern, eventuell die Fibrinmethode und die Bielschowskysche oder Mallorysche Methode zur Darstellung des feineren Bindegewebegerüstes, sowie vor allem die Methoden auf Tuberkelbazillen an Schnittpräparaten in Betracht.

Bei Entzündungen der Pleura ist oft eine Fibrinfärbung indiziert. Pleurainhalt wird nach der Art von Flüssigkeiten untersucht.

Bei der Schilddrüse leistet die van Gieson färbung besonders Gutes (das Kolloid färbt sich orange).

Bei Schnitten durch die sogenannten Epithelkörperchen ist ebenfalls die van Gieson färbung vorteilhaft, des weiteren auch eine Hämatoxylin-Eosinfärbung, da sich die oxyphilen Zellen mit dem sauren Eosin färben.

Untersuchung von Sputum.

Man muss hierbei daran denken, dass neben dem eigentlichen Sputum demselben oft Zellen der Mund- und Rachenhöhle beigemengt sein können, desgleichen Speisereste, welche im Mund hängen geblieben sind.

Das Sputum wird im allgemeinen frisch untersucht, evtl. nach Verdünnung mit Kochsalzlösung, doch kann man es in besonders wichtigen Fällen auch härten — am besten in Alkohol — einbetten und schneiden.

Von Bestandteilen des Sputums kommen besonders in Betracht:

Rote und weisse Blutkörperchen (über ihre färberische Darstellung s. unter Blut). Aus dem Blut stammendes Pigment (»Herzfehlerzellen«) wird mit der Eisenreaktion identifiziert (s. S. 177).

Epithelien. Die Plattenepithelien der Mundhöhle, die Zylinder- und Flimmerepithelien der Trachea und Bronchien kann man leicht erkennen, besonders wenn man einen Tropfen einer Farbflüssigkeit, z. B. Methylenblau oder Fuchsin, zusetzt. Auch kann man Abstrichpräparate anfertigen. Pigmenthaltige Epithelien lassen sich ohne weiteres als solche erkennen.

Fibrin, von bronchitischen oder pneumonischen Prozessen stammend, kann man nach Fixation am Deckglas mittels der Weigertschen Methode darstellen.

Fremde eingeatmete Stoffe, wie Kohle, Eisen, Kalk etc. können in der Regel leicht erkannt werden, doch kann man auch mikrochemische Reaktionen (s. Kapitel XII) anstellen.

Von Kristallen kommen die sogenannten Asthmakristalle, sehr spitze lange Oktaeder, die Charcot-Leidenschen Kristalle, Curschmannsche Spiralen und evtl. (putride Bronchitis oder Gangrän) fettsaure Kristalle in Betracht.

Man kann das zu untersuchende Material am Deckgläschen in 5%iger Sublimatlösung (5—10 Minuten) oder in absolutem Alkohol (30 Minuten) fixieren und nach gutem Auswaschen in dünnem alkoholischen Fuchsin färben.

Oder man macht nach der gewöhnlichen Art ein Deckglastrockenpräparat und färbt es mit Eosin-Methylenblau.

Färbung auf elastische Fasern ist häufig, so beim Gangrän, besonders wichtig. Man verwendet bei Prüfung auf dieselben 1%ige Kalilauge, welche man dem frischen Präparat zusetzt, oder man kocht das Sputum mit 10%iger Kalilauge, indem man etwa gleiche Teile mischt, ungefähr um das 5fache mit Wasser verdünnt und sodann entweder zentrifugiert oder absetzen lässt. Das Sediment wird entweder frisch untersucht oder indem man Deckglastrockenpräparate herstellt und diese mit der Weigertschen Methode auf elastische Fasern behandelt.

Parasiten sind in jeder Mundhöhle vorhanden, doch ist es oft wichtig, auf besondere solche zu untersuchen. Insbesondere kommen hier die Tuberkelbazillen in Betracht.

Man macht Deckglastrockenpräparate und färbt wie Seite 225 angegeben. Die dort erwähnte Antiforminmethode ist gerade beim Sputum als Anreicherungsverfahren von hervorragender Wichtigkeit.

Es sei noch bemerkt, dass man beim Suchen sowohl nach den Bazillen, wie auch nach elastischen Fasern die oft im Sputum vorhandenen kleinen gelben Bröckel besonders beachten muss, da jene sich gerade hier am meisten finden.

D. Verdauungsapparat.

In den oberen Teilen des Verdauungsapparates kommen bei Katarrhen ausser Übersichtsbildern Schleimfärbungen, bei diphtheritischen Entzündungen Färbungen auf Fibrin und Bakterien in Betracht.

Zur Darstellung der Erreger der Aktinomykose, des Soor, der Diphtherie s. die im Kapitel „Bakteriologie" angegebenen Methoden.

Beim Magen und Darm ist fast stets Härtung und zumeist auch Einbettung in Celloidin oder Paraffin angebracht. Es ist hier sehr wichtig, um das Oberflächenepithel gut zu erhalten, die Stücke sehr bald nach dem Tode der Leiche zu entnehmen und einzulegen. Man findet die Epithelien daher bei operativ entnommenem Material am besten erhalten und bekommt hier überraschend schöne Bilder. Oft ist es gut bei Sektionen, um das Epithel möglichst unverletzt zu erhalten, vom Darm vor dem Aufschneiden kleine Stückchen oder auch kleine ringförmige Partien zu entnehmen und einzulegen.

Man kann auch gleich nach dem Tode eine Fixierungsflüssigkeit durch die Schlundsonde in den Magen bringen. Am besten spült man vorher mit Wasser oder Kochsalzlösung aus.

Zur Härtung ist auch hier Formol oder Orthsches Gemisch, eventuell auch Sublimat geeignet.

Man kann in Paraffin (die Darmmuskulatur wird leicht spröde) oder Celloidin einbetten.

Im allgemeinen ist auch hier Eisenhämatoxylin und die van Gieson-methode zu empfehlen.

Zur Unterscheidung der Haupt- und Belegzellen des Magens stehen eine Reihe Methoden zur Verfügung. Sie lassen sich bei Hämatoxylin-Eosinfärbungen (besonders bei Härtung in Sublimat und längerer Differenzierung in Wasser), sowie mittels der Biondi-Heidenhainschen Färbungsmethode differenzieren.

Bei der Färbung mit Unnaschem Methylenblau färben sich die Hauptzellen blau, die Belegzellen bleiben ungefärbt (Kokubo); bei der Altmann-Schriddeschen Methode weisen erstere rotbraune, letztere violett gefärbte Granula auf.

Eine eigene Methode ist von Kolster angegeben worden.

1. Starkes Färben mit Hämatoxylin.
2. Differenzieren in Salzsäurealkohol.
3. Neutralisieren in 1%igem Ammoniak-Alkohol, bis die Schnitte leicht blau gefärbt sind.
4. Auswaschen in destilliertem Wasser.
5. Nachfärben in sehr dünner, wässeriger Säurefuchsinlösung (5 Tropfen konzentrierte Lösung auf 10 ccm Wasser).
6. Auswaschen in destilliertem Wasser.
7. Entwässern in absolutem Alkohol.
8. Xylol. Balsam.

Die Belegzellen sind rot (Säurefuchsin), die Hauptzellen blau (Hämatoxylin) gefärbt.

Bei den spezifischen Erkrankungen des Darmes wie Typhus, Ruhr, Cholera, Milzbrand, Tuberkulose sind die betreffenden Bakterienfärbungen (s. Kapitel XIV) anzuwenden. Desgleichen s. über die Darmparasiten, Bandwürmer etc. S. 245.

Mageninhalt (Gebrochenes).

In der Regel wird zentrifugiert oder sedimentiert und entweder frisch oder im Deckglastrockenpräparat untersucht. Man färbt dann mit Hämatoxylin-Eosin auf zelluläre Bestandteile, oder mit Anilinfarben, wie Methylenblau oder Fuchsin, auf Bakterien.

Sind Stücke Gewebe mit abgegangen, so fixiert man, bettet sie ein und schneidet sie.

Wegen Blutbestandteilen, Eiterkörperchen, Parasiten siehe die Kapitel XIV und XV.

Zur Färbung von Schleim dient das Thionin.

Darminhalt.

Es ist hierbei daran zu denken, dass derselbe wie bei Cholera, Typhus etc. sehr infektiös sein kann, und dass man daher antiseptische Vorbeugungsmafsregeln treffen muss.

Der Darminhalt muss frisch untersucht werden, er soll warm gehalten werden, besonders wenn es auf die Untersuchung von Parasiten, z. B. von Amöba coli ankommt.

Man untersucht entweder im frischen Präparat, indem man mit einer Platinöse etwas Darminhalt in Wasser oder Kochsalzlösung auf dem Objektträger verreibt und das Deckglas auflegt, oder man fertigt Deckglastrockenpräparate an.

In der Regel muss man den Darminhalt erst verdünnen.

Auch auf die makroskopische Inspektion, Ausbreitung (auf dunklem Untergrund) kommt zum Aussuchen der wichtigen Partieen der Fäzes viel an.

Bei der Untersuchung handelt es sich vor allem um folgende Bestandteile:

Blut. Häminkristalle sind manchmal vorhanden.

Über die Teichmannsche Häminprobe siehe Seite 274.

Oft ist diese wegen des Vorhandenseins von Fett in den Fäzes nicht vorzunehmen.

Sterzyzowsky zerdrückt schwarze, blutverdächtige Massen zwischen Filtrierpapier, bringt ein klein wenig der schwärzest aussehenden Massen auf den Objektträger, fügt 1 Tropfen 2 promilliger Natriumjoditlösung hinzu, erwärmt, legt das Deckgläschen darauf, lässt vom Rande einige Tropfen Eisessig eintreten und erwärmt einige Sekunden bis Blasen aufsteigen. Wenn Blut vorhanden ist, so erscheinen schwarz gefärbte Kristalle.

Kobert zieht etwas Kot mit schwefelsaurem Alkohol aus und verdünnt den Auszug stark mit Wasser. Hierbei fällt das Hämatin aus. Man entfettet den Niederschlag mit Alkohol und erhitzt mit Eisessig.

Auch die Gegenwart von Eisen mag die Teichmannsche Probe verhindern. Nach Rossel schüttelt man dann die Fäzes mit starker Essigsäure und Wasser und dann mit chloralhydrathaltigem Äther aus, destilliert den Äther dann ab und neutralisiert, wobei das Hämatin ausfällt.

Joachim schüttelt die Fäzes mit essigsäurehaltigem Äther und untersucht dann das Hämatinazetat.

Schleim wird mit Thionin nachgewiesen, welches gleichzeitig Kerne und evtl. Mikroorganismen färbt.

Speisereste werden besonders an dem nekrotischen Zustand leicht erkannt.

Stärkekörner aus pflanzlicher Nahrung geben die Jodreaktion.

Bakterien.

Zur Isolation der Bakterien in den Fäzes werden dieselben nach Strasburger zunächst mit Wasser verdünnt und zentrifugiert. Die Bakterien befinden sich in der Flüssigkeit. Man giesst diese vom Sediment ab, verdünnt sie mit etwas Wasser und zentrifugiert von neuem. Jetzt befinden sich die Bakterien im Sediment, und man kann sie nach dessen Entnahme direkt untersuchen und evtl. färben oder Deckglastrockenpräparate anlegen.

Zur Untersuchung von Cholera-Vibrionen lässt man die Fäzes einige Zeit mit gleicher Menge alkalischer Bouillon verdünnt in einem offenen weiten Gefäss stehen. Die Choleraerreger wachsen dann besonders an der Oberfläche, und Präparate dieser entnommen enthalten die Vibrionen in grossen Massen (Schottelius).

Bei Untersuchung auf Tuberkelbazillen muss man zur Unterscheidung von anderen säurefesten Bazillen mit Salzsäurealkohol gut differenzieren.

Zur Isolation des Typhusbazillus etc. dienen die in den Handbüchern der Bakteriologie angegebenen speziellen Methoden.

Zur Untersuchung auf Amöba coli muss man die Fäzes warm halten und am besten den heizbaren Objekttisch, wobei man die Bewegungen des Parasiten wahrnehmen kann, benutzen.

Bei der Untersuchung auf mittelgrosse Darmparasiten leistet eine Lupe oft gute Dienste.

Auch zum Nachweis von Eiern muss man die Fäzes oft mit Wasser verdünnen und zentrifugieren. Die Eier haften häufig an Schleimmassen. Stellt man eierhaltige Fäzesmassen einige Tage in den Brutschrank, so erscheinen meist junge Würmer.

Im übrigen sei wegen der pflanzlichen und tierischen Parasiten gerade des Darmes auf die diesbezüglichen Kapitel verwiesen.

E. Leber und Pankreas.

Um atrophische und degenerative Zustände der Leber festzustellen, genügt es in der Regel, Abstrichpräparate zu machen. Sonst härtet man am besten in Formol und schneidet auf dem Gefriermikrotom, was gerade in der Leber sehr gut gelingt.

Für feine Strukturen bettet man in Celloidin oder Paraffin ein.

Zur Fixierung der Leber empfiehlt Browicz ganz besonders das Formol. Dieses und eventl. Sublimat eignen sich auch deswegen sehr gut, weil sie die Galle sehr gut erhalten, indem sie diese in eine in Alkohol und Wasser schwer lösliche Verbindung umwandeln. Die Fixierungsflüssigkeit, besonders das Formol, gibt der Galle allerdings oft einen grünen Farbton.

Soll auf Glykogen untersucht werden, so muss man in Alkohol abs. einlegen.

Dass für die ja gerade in der Leber so häufige Verfettung Formolhärtung, Gefrierschnitte und Färbung mit Scharlach R die souveräne Methode darstellt, liegt auf der Hand, doch muss man daran denken, dass eine gewisse Menge besonders grosstropfigen Fettes in der Leber als physiologisch zu betrachten ist.

Es sei noch darauf hingewiesen, dass man Lebern von frisch getöteten Tieren besser erst einige Stunden nach dem Tode der Tiere in die Härtungsflüssigkeit einlegt, da sofort eingelegte Stücke, wenigstens bei Formolfixierung, überaus stark hervortretende Zerstörungen des Protoplasmas aufweisen.

Zu allgemeinen Zwecken, wie insbesondere auch zur Darstellung von Lebercirrhose, Tumoren etc., dient die van Giesonmethode mit Hämatoxylinvorfärbung. Auch die Mallorysche 3 Farben-Methode ist hier sehr geeignet.

Für besondere Zwecke (Fett-Infiltration und sogenannte -Degeneration, akute gelbe Leberatrophie, Stauungsleber etc.) dienen die schon erwähnte Fettfärbung, die Färbung auf elastische Fasern (Cirrhose), auf Eisenpigment usw.

Bei den Kernfärbungen mit Hämatoxylin ist darauf zu achten, dass man Salzsäurealkohol, welcher Galle lösen kann, evtl. vermeidet.

Von besonderen Strukturen der Leber, für welche eigene Methoden angegeben wurden, kommen in Betracht:

I. Die Gallenkapillaren.

II. Die Kupfferschen Gitterfasern.

III. Die Kupfferschen Sternzellen.

I. Gallenkapillaren.

Eine gute Darstellung derselben hängt sehr von dem frischen Zustand der Gewebe ab. Sie werden oft schon bei der Heidenhainschen Eisenalaun-Hämatoxylinmethode und bei der Biondi-Heidenhainschen Methode, in letzterem Falle rot, dargestellt; zuweilen sieht man sie auch bei Anwendung der in der Leber besonders empfehlenswerten Malloryschen 3 Farbenmethode.

Von speziellen Methoden kommen in Betracht:

1. Die Weigertsche Neurogliamethode (s. Seite 322).

Sie kann auch nach v. Jagicz an Gefriermikrotomschnitten nach Formolhärtung vorgenommen werden, wenn man die Schnitte $^1/_2$ Stunde in $^1/_2$ %iger wässeriger Lösung von Chromsäure beizt, sie sodann in der zweiten Gliabeize 5—6 Stunden liegen lässt, gut auswässert und ganz nach der Weigertschen Gliamethode weiterbehandelt.

Schmorl empfiehlt die von Bartel angegebene Modifikation der Weigertschen Methode für unentparaffinierte Schnitte (s. Seite 325).

2. Methode nach Eppinger (jun.).

Diese stellt eine Kombination der Weigertschen Markscheiden- und Gliamethode dar.

1. Härten kleiner Leberstückchen in Formol 5—10 Tage. Am besten nimmt man die Fixierung nicht gleich nach dem Tode vor, da lebenswarme Stücke, infolge stark trüben Protoplasmas, die Wand der Gallenkapillaren nicht gut hervortreten lassen.

2. Einlegen in Weigertsche Neurogliabeize (Kupferbeize) 10 Tage, oder 5 Tage im Brutschrank.

Man kann auch Nr. 1 und 2 verbinden, indem man in

Gliabeize 10 Teile,
40 %iges Formol 1 Teil

10 Tage oder im Brutschrank 5 Tage einlegt.

3. Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin, Schneiden.

4. Färben der Schnitte in 1 %iger wässeriger Hämatoxylinlösung (heiss gelöst) $^1/_2$ bis mehrere Stunden (bei frischen Lösungen sind bis 24 Stunden nötig).

5. Direktes Übertragen in gesättigte wässerige Kupferazetatlösung für genau 5 Minuten.

6. Mehrstündiges bis eintägiges Auswaschen in destilliertem Wasser.

7. Differenzieren in Weigertschem Borax-Ferricyankaliumgemisch, welches stark mit Wasser verdünnt ist, etwa 10 Minuten, bis die Schnitte einen bräunlichen Ton haben (Kontrolle unter dem Mikroskop).

8. Gründliches Abspülen in destilliertem Wasser.

9. Einlegen in gesättigte wässerige Lithioncarbonicumlösung, bis das bisher mitgefärbte Celloidin entfärbt wird, 3—5 Minuten.

10. Gründliches Wässern.

11. Entwässern in absolutem Alkohol.

12. Origanumöl, Balsam.

Die Schnitte werden in der Kupferazetatlösung leicht brüchig; sie müssen vorher gut ausgebreitet sein.

Die Kerne und Gallenkapillaren sind braun dargestellt.

3. Böhmsche Methode.

1. Härten kleiner Gewebsstücke 12 Stunden in:
   3%ige Kaliumbichromicumlösung 4 Teile,
   1%ige Osmiumsäurelösung 1 Teil.
2. Übertragen in 0,75%ige Silbernitratlösung 48 Stunden.
3. Auswässern in destilliertem Wasser.
4. Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten, Schneiden.
5. Gegenfärben mit einem Kernfarbstoff etc.

Die Gallenkapillaren sind schwarz auf gelbem Grund.

Diese letzte älteste Methode zur Darstellung der Gallenkapillaren ist weniger zu empfehlen, dagegen geben die beiden erstgenannten sehr gute Resultate.

Es sei noch erwähnt, dass man auch mit Hilfe von Injektionen die Gallenkapillaren darstellen kann, und dass in Fällen von Ikterus oft eine natürliche Injektion der Kapillaren mit Galle zu finden ist.

II. Kupffersche Gitterfasern.

Zu deren Darstellung dienen besonders Silberimprägnationsverfahren.

1. Die Bielschowskysche Methode (s. Seite 128).

Diese stellt gerade die Gitterfasern unter normalen und unter pathologischen Bedingungen in idealer Weise dar. Sie ist bei einiger Übung unschwer vorzunehmen und ausserordentlich zu empfehlen.

2. Methode von Böhm.

Sie wie die nächste Methode stellen Modifikationen der aus dem Nervensystem (s. dort) bekannten Golgischen Methode dar.

1. Härten kleiner Stücke in $^1/_2$%iger Chromsäurelösung 48 Stunden.
2. Übertragen in 0,75%ige Silbernitratlösung 72 Stunden.

3. Stundenlanges Wässern in destilliertem Wasser.
4. Nachhärten in steigendem Alkohol.
Sehr schnelles Einbetten in Celloidin oder in Paraffin, Schneiden.
5. Wässern der Schnitte, Entwässern. Xylol. Balsam.
Die Gitterfasern sind schwarz dargestellt.

3. Oppelsche Methode.

1. Härten in Alkohol.
2. Übertragen in 10%ige Lösung von Kaliumbichromicum flavum 24 Stunden.
3. Übertragen in sehr reichliche und öfters zu wechselnde wässerige Lösung von 0,75%igem Argentum nitricum 24 Stunden.
4. Auswaschen in destilliertem Wasser.
5. Entwässern in absolutem Alkohol, Einbetten, Schneiden etc.

Auch die Weigertsche Fibrinmethode in der Benekeschen Modifikation, ferner die Giemsafärbung in der Modifikation von Schridde, die Verocaysche und Hütersche Färbung auf Bindegewebsfasern stellen, wenn auch zuweilen weniger gut, die Gitterfasern dar.

Von diesen ist wohl die Verocaysche Methode (s. S. 131) noch am meisten zu empfehlen.

Es sei noch erwähnt, dass sich die Gitterfasern in hyperplastischen Zuständen wie z. B. häufig bei Diabetes oder Lebercirrhose schon nach der van Gieson methode rot färben.

Das Bindegewebe der zwischen den Leberzellen gelegenen Kapillarwände färbt sich besonders gut mit der Malloryschen Methode (s. S. 133).

III. Kupffersche Sternzellen.

I. v. Kupffersche Methode.

1. Schneiden frischer Stücke auf dem Gefriermikrotom und Einlegen derselben in 0,05%ige Chromsäurelösung für 10 Minuten.
2. Einlegen der Schnitte in:
Goldchlorid 1 Teil,
Salzsäure (oder 0,4%iges Formol) 1 Teil.
Wasser 1000 Teile.
Die Schnitte bleiben hierin $^1/_2$—2 Tage im Dunkeln, bis sie rot bis violett erscheinen.
4. Reduktion der Schnitte in 0,1—0,2%iger Ameisensäure.
5. Entwässern in absolutem Alkohol.
6. Xylol. Balsam.
Die Sternzellen sind schwarz, Leberzellen rotviolett dargestellt.
Die Methode ist sehr unzuverlässig.

Rothe nimmt in Nr. 3 Wasser 10000 Teile.

Es sei noch erwähnt, dass sich Sternzellen auch mit der Bielschowskyschen Methode zuweilen mitimprägnieren.

Bei Tieren kann man die Sternzellen durch Injektion von Karmin (Asch) oder chinesische Tinte (v. Kupffer) oder am allerschönsten nach Cohn durch Injektion von Argentum colloidale Credé (1 gr., Wasser 5 ccm) in die Ohrvene eines Kaninchens darstellen. Tötet man die Tiere dann schon 3 Minuten nach der Injektion, so sind die Sternzellen bereits vollständig schwarz imprägniert.

Bei dem Menschen treten die Sternzellen am deutlichsten hervor, wenn sie, wie besonders häufig bei Diabetes oder bei sonstigen lipämischen Zuständen, so auch nach Chloroformnarkose, isoliert verfettet sind.

Auch das Pankreas (sowie die übrigen Speicheldrüsen) härtet man am besten in Formol-Sublimat, Orthschem Gemisch etc. und bettet in Celloidin oder Paraffin ein.

Als allgemeine Färbung ist auch hier die van Giesonmethode zu empfehlen.

Zur Darstellung des feinen Bindegewebsgerüstes, welches man auch hier als Gitterfasern bezeichnen kann, dient am besten ebenfalls die Bielschowskysche oder auch die Verocaysche Methode, des weiteren die Mallorysche Dreifarbenmethode.

Fettfärbungen nehme man an Gefrierschnitten nach Formolhärtung vor, doch sei daran erinnert, dass auch normaliter das Pankreas Fett enthält.

Die Langerhansschen Zellinseln treten bei Fettfärbungen meist deutlich hervor.

Die Zymogenkörnchen werden nach der Galeottischen Methode (s. Seite 121), diejenigen der Zellinseln auch nach einer von Laue angegebenen Methode (Chromsublimathärtung, Färbung in einem Gemisch von Gentianaviolett und Orange G), die zentroazinären Zellen nach der Heidenhainschen Eisenhämatoxylin- oder Biondi-Heidenhainschen Methode gefärbt.

Zur Darstellung der im Pankreas und im umliegenden Fettgewebe auftretenden Fettgewebsnekrosen dient die

Bendasche Reaktion:

1. Härten der Stücke in 10%igem Formol.

2. Übertragen in die Weigertsche Kupfer-Fluorchrombeize im Brütofen 2—4 Tage oder Kombination von Nr. 1 und 2. Hierbei treten die fettgewebsnekrotischen Partien dunkel grün-schwarz hervor.

3. Eventl. Schneiden auf dem Gefriermikrotom.

4. Eventl. färben mit Scharlach R (Sudan III) und dann mit Hämatoxylin (s. unter Fettmethoden).

Jetzt sind die Kerne blau, das normale Fett rot und die nekrotischen Teile grün gefärbt.

Es handelt sich hierbei um die Bildung eines fettsauren Kupfersalzes (Benda).

Man kann auch die Beizung an Gefrierschnitten vornehmen, dann genügen einige Stunden. Derartige Schnitte kann man dann ebenfalls mit Scharlach R und Hämatoxylin nachfärben.

Das bei der Bendaschen Methode gebildete fettsaure Kupfersalz färbt sich nicht mit wässeriger Hämatoxylinlösung, hingegen mit alkoholischer Hämatoxylinlösung schwarz. Diese Lackbildung ist in Weigerts Boraxferricyankaliumgemisch fast unlöslich (Fischler).

Fischler färbt infolgedessen Gefrierschnitte von nach Benda vorbehandeltem Material 24 Stunden in einer 1%igen Hämatoxylinlösung in 96%igem Alkohol und differenziert in dem Weigertschen Borax-Ferricyankaliumgemisch.

Dann sind nur die vorher grün gefärbten nekrotischen Teile schwarz dargestellt.

Über die Anwendung dieser Methode allgemein zur Darstellung von Fettsäuren und fettsaurem Kalk s. Seite 154.

Berner legt, um die Bendasche Reaktion auch an Paraffinschnitten ausführen zu können, die Stücke in Formol, dann in die Neurogliabeize, sodann nach gründlichem Wässern in 96%igen Alkohol, dann in Anilinöl, entfernt dies durch kurzes Einlegen in Aceton und schliesst dann durch Benzin in Paraffin ein. Entparaffinierte Schnitte werden in Hämatoxylin gefärbt und in Lävulose untersucht und aufgehoben.

Für die Halsspeicheldrüsen kommen auch die gewöhnlichen Färbemethoden in Betracht.

Für die von ihnen ausgehenden Mischgeschwülste ist oft eine Färbung auf elastische Massen, die zuweilen hier in riesigen Mengen vorhanden sind, angezeigt.

F. Harnapparat.

Frische Schnitte der Niere genügen oft schon, um Degenerationszustände derselben, vor allem Verfettung festzustellen.

Im allgemeinen wird man in den bekannten Härtungsmitteln fixieren — auch hier ist Formol oder Orthsches Gemisch sehr vorteilhaft — und entweder auf dem Gefriermikrotom schneiden — solche Schnitte gelingen meist sehr gut — oder in Celloidin bezw. in Paraffin einbetten.

Die Einbettung ist deswegen besonders bei der Niere häufig nötig, weil sonst leicht manche Teile derselben beim Schneiden herausfallen.

Handelt es sich um die Fixierung eiweisshaltiger Flüssigkeiten in Glomeruluskapseln oder Harnkanälchen, so kann man die Kochmethode

anwenden, doch stellt auch Härtung in absolutem Alkohol oder selbst in Formol und Einbettung in Celloidin diese geronnenen Flüssigkeiten gut dar.

Kommt es auf Untersuchung auf Harnsäure an (s. Seite 187), so muss man natürlich in absolutem Alkohol härten.

Härtung in Formol und Gefrierschnitte in Verbindung mit Fettfärbungen (Scharlach R) sind in der Niere besonders indiziert, denn man wird gerade bei dieser (und ebenso beim Herzen) erstaunt sein, wie gross die Zahl der Fälle ist, in welchen sich, ohne dass man sie makroskopisch wahrnehmen konnte, Verfettung bestimmter Teile der Niere vorfindet.

Auch zur Erkennung der feinsten Veränderungen der ganz kleinen Nierenarterien ist die Scharlach R-Färbung sehr vorteilhaft.

Da es sich in der Niere häufig nicht nur um Fett, sondern auch um fettähnliche Körper, sogenanntes „Protagon" etc. handelt, muss man ebenfalls an Gefrierschnitten die Seite 154 f angegebenen Methoden, insbesondere auch die physikalische der Polarisation anwenden.

In besonderen Fällen muss auf Amyloid oder auf Kalk gefärbt werden.

Die zu Übersichtsbildern auch hier empfehlenswerteste van Gieson-sche Methode lässt bei den sogenannten hyalin veränderten Glomeruli den von der Kapsel ausgehenden hyalinen Bestandteil rot gefärbt, den vom Glomerulus selbst ausgehenden gelb erscheinen, und somit auf das einfachste beide trennen.

Das sogenannte Stoerksche Hyalin färbt sich bei der van Gieson-Methode orange und fällt durch diese Färbung in die Augen. Man kann dasselbe auch mit Eisenhämatoxylin (Heidenhain) nachweisen, und diese Methode, sowie die Weigertsche Gliamethode ist auch zur Darstellung der feinen Kutikularsäume der Epithelien geeignet. Für Zylinder leistet die Weigertsche Fibrinmethode, mit der sie sich oft blau färben, ohne aus Fibrin zu bestehen, meist gute Dienste.

Bei Kalkinfarkten wird naturgemäß auf Kalk, bei Harnsäureinfarkten der kleinen Kinder nach Einbettung in Alkohol auf Harnsäure gefärbt.

Eine Färbung auf elastische Fasern ist einmal bei Veränderungen der Niere, welche von Atherosklerose der Gefässe abhängen, wichtig, sodann auch bei Schrumpfnieren interessant, weil sich um degenerierte Glomeruli häufig feine elastische Fasern bilden.

Auch für die Untersuchung der Harnblase gelten die allgemeinen Untersuchungsmethoden.

Bei der seltenen sogenannten Malakoplakie sind Eisenreaktionen anzustellen.

Um Nieren- und Blasensteine zu untersuchen, muss man Schliffe anfertigen.

Um das organische Gerüst frei zu erhalten, werden die harten Steinmassen gelöst.

Schmorl empfiehlt hierzu Harnsäuresteine, die sich am leichtesten lösen, in 40%iges Formalin bei 37°, Oxalsteine und Phosphatsteine in 40%iges Formalin, dem auf 100 ccm 0,5 ccm Salpetersäure zugesetzt ist, einzulegen.

Nach Entkalkung kann man das organische Grundgerüst in Alkohol härten, einbetten und wie gewöhnlich färben.

Harn.

Harn muss sedimentiert oder zentrifugiert werden, dann kann man das Sediment mit der Pipette entnehmen und zwischen Objektträger und Deckgläschen frisch oder — besonders bei Untersuchungen auf Bakterien — als Deckglastrockenpräparat untersuchen.

Rote Blutkörperchen, Leukocyten, Epithelien, Schleimmassen, Pigment (Blutpigment, evtl. Häminprobe oder Melanin) kann man leicht im frischen Präparat erkennen, evtl. unter Verdünnung des Sedimentes oder mit Zusatz der für frische Präparate üblichen Reagenzien.

Zusatz einer Farbflüssigkeit, wie Methylenblau oder Eosin ist oft sehr vorteilhaft.

Bei der Untersuchung auf Zylinder setzt man einige Tropfen ganz dünner Jodjodkaliumlösung zu.

Fett wird mit Scharlach R am besten nach der auf Seite 151 für Sedimente angegebenen Methode nachgewiesen.

Fragmente von Tumoren aus der Harnblase kann man härten, einbetten und schneiden, doch ist eine Diagnose, ob es sich um einfaches Papillom handelt oder um Karzinom, oft sehr schwierig, besonders wenn es sich um ganz kleine nicht orientierbare Partikel handelt. In manchen Fällen wird die Diagnose sehr erleichtert, wenn man darauf achtet, ob zahlreiche Mitosen vorhanden sind oder nicht.

Zum Nachweis von Bakterien macht man ebenfalls von dem Sediment des zentrifugierten Urins am besten Deckglastrockenpräparate und färbt sie mit den bekannten Methoden auf Bakterien. Manche grosse Parasiten kann man auch schon im ungefärbten Präparat erkennen.

Am wichtigsten ist die Untersuchung auf Tuberkelbazillen. Sie ist um so schwieriger, als sich im Urin meist nur sehr wenig Tuberkelbazillen vorfinden und sie hier schwer von den Smegmabazillen zu trennen sind.

Am besten entnimmt man den Urin mittels Katheters, um nach Möglichkeit die Berührung mit den äusseren Urinwegen zu vermeiden. Man sedimentiert oder besser zentrifugiert den Urin und färbt sodann mit Karbolfuchsin, wobei stärkere Differenzierung mit Salzsäurealkohol angewandt werden soll, welche zumeist die Smegmabazillen entfärbt, die Tuberkelbazillen gefärbt lässt.

Hierauf basieren die Seite 231 angegebenen unterscheidenden Färbungsmethoden.

Von grösserer Wichtigkeit ist die ebenfalls dort schon wiedergegebene Methode von Gasis, bei welcher es leichter gelingt, die Tuberkelbazillen und Smegmabazillen vollständig zu trennen.

Die sicherste Unterscheidung wird aber nach wie vor durch den Tierversuch herbeigeführt.

Auch für die evtl. im Urin sich findenden tierischen Parasiten, Echinokokken, Filarien, Eier und Embryonen von Distomum haematobium und Infusorien gelten die in dem betreffenden Kapitel schon angegebenen Methoden.

Kristallinische Massen, welche sich oft im Urin finden, kann man schon der Form der Kristalle nach im frischen Präparat erkennen.

Am besten prüft man erst die Reaktion des Urins, da manche Kristalle sich nur im sauren, manche sich nur im alkalischen Harn vorfinden, sodass man schon hiernach Anhaltspunkte hat.

Im Urin kommen vor:

Harnsäure, zumeist in Form rhombischer Tafeln, oder spitzer Nadeln, oder in sogenannter Wetzsteinform,

das saure harnsaure Natrium, welches amorph ist (ziegelrotes Sediment),

der oxalsaure Kalk in Form der sogenannten briefkuvertförmigen Kristalle,

das Thyrosin, welches garbenförmig liegende Nadeln,

das Leucin, welches Kugeln,

das Cystin, welches sechsseitige regelmäßige Tafeln bildet,

harnsaures Ammoniak in Form der bekannten Stechapfelform,

kohlensaurer Kalk in Form von Kugeln bezw. in Bisquitform,

phosphorsaurer Kalk amorph oder in Form wenig charakteristischer Kristalle und

phosphorsaure Ammoniakmagnesia, das sogenannte Tripelphosphat in der sogenannten Sargdeckelform.

Bei der Untersuchung auf Harnsedimente kann die von Posner empfohlene Dunkelfeldbeleuchtung sehr vorteilhaft sein.

Nebennieren und chromaffiner Apparat. (Paraganglien).

Zum Nachweis des Fettes werden die diesbezüglichen Methoden gebraucht, einschliesslich derjenigen auf Polarisation etc., für Glykogen besonders die Bestsche Methode. Sonst kommen die gewöhnlichen Härtungsmittel und Übersichtsfärbemethoden in Betracht.

Die Tumoren der Nebenniere und der versprengten Keime kann man ebenfalls auf Fett etc. färben, sowie nach Fixierung in Alkohol und Einbettung in Celloidin auf Glykogen.

Im Mark der Nebenniere und ebenso in den sogenannten Paraganglien, d. h. den vom Sympathikus abzuleitenden Organen, zu welchen auch die Karotisdrüse, Steissdrüse etc. gehören, sind nun von besonderer Bedeutung die sogenannten

chromaffinen Zellen,

insbesondere auch im Hinblick auf die Addisonsche Krankheit.

Der Name chromaffine Zellen besagt schon, dass diese zum Chrom besondere Affinität besitzen.

Man muss deshalb von vornherein in chromsäurehaltige Fixierungsmittel einlegen, so in Müllersche Flüssigkeit oder Orthsches Gemisch: man kann dann die Kerne mit den gewöhnlichen Kernfärbemitteln oder (Pecnik, Stangl) mit polychromem Methylenblau färben, wobei die chromaffinen Zellen eine grasgrüne Farbe annehmen.

Besondere Methoden sind angegeben worden: von Kohn, welcher sich zuerst mit den fraglichen Gebilden beschäftigte und Wiesel, welcher die Pathologie derselben hauptsächlich studierte.

Kohn empfiehlt hauptsächlich eine Mischung von 96 ccm einer 3,5%igen wässerigen Kaliumbichromatlösung und 10 ccm 40%iges Formol.

Wiesel hat folgendes Verfahren angegeben:

1. Fixieren möglichst frischen Materials 1—4 Tage in:
   5%ige wässerige Kaliumbichromatlösung 20 ccm,
   10%iges Formol 40 ccm,
   Aqua dest. 40 ccm.
2. Übertragen in 5%ige wässerige Kaliumbichromatlösung 1—2 Tage.
3. Gründliches Auswaschen in fliessendem Wasser, Entwässern in steigendem Alkohol, Einbetten in Paraffin, Schneiden.
4. Färben der Schnitte in 1%iger wässeriger Wasserblau- oder Toluidinblaulösung 20 Minuten.
5. Wässern in Leitungswasser 5 Minuten.
6. Nachfärben in 1%iger wässeriger Safraninlösung 20 Minuten.
7. Differenzieren in 96%igem Alkohol, bis die blaue Farbe wieder erscheint.
8. Entwässern in absolutem Alkohol.
9. Xylol. Balsam.

Die chromaffinen Zellen sind ausgesprochen grün, das Protoplasma der anderen Zellen hellblau, alle Kerne rot gefärbt.

Schmorl (und desgl. Thomas) empfiehlt:

1. Fixierung in Orthschem Gemisch.
2. Gefrierschnitte oder Einbetten, Schneiden.
3. Färben der Schnitte in um das 10fache mit Aqua dest. verdünnter Giemsascher Lösung, 24 Stunden.
4. Wässern in destilliertem Wasser.
5. Kurzes Differenzieren in $^1/_4$%iger Essigsäure.
6. Entwässern in absolutem Alkohol.
7. Xylol. Balsam.

Die chromaffinen Zellen sind grün, Kerne dunkelblau, das Protoplasma der anderen Zellen ist rot gefärbt.

G. Nervensystem.

Speziell im Nervensystem ist es von ausserordentlicher Wichtigkeit, die Organstücke möglichst frisch einzulegen. Für zahlreiche Methoden aber ist es trotzdem meiner Erfahrung nach nicht gut, lebenswarm zu härten, so z. B. für die Weigertsche Gliamethode oder die Bielschowskysche Methode.

Präparate vom frischen ungefärbten Objekt geben beim Nervensystem nur selten befriedigende Resultate, doch sind solche und zwar vom Gehirn als einfache Quetschpräparate manchmal angezeigt um Körnchenzellen, welche man ja sofort an ihrem Fettgehalt erkennen kann, nachzuweisen, da diese einen im Leben vor sich gegangenen Prozess beweisen.

Zur Härtung sollen also die Organe von einer möglichst frühzeitig gemachten Sektion und zwar ohne vorher gewässert zu sein, direkt in die Fixations- und Härtungsflüssigkeit eingelegt werden.

Bis vor kurzem diente gerade beim Zentralnervensystem (und beim Auge) die Müllersche Flüssigkeit als allgemein gebrauchtes Fixationsmittel. Allein einmal härtet sie sehr langsam, andererseits gelingen eine Reihe gerade der wichtigsten Methoden nach Anwendung der Müllerschen Flüssigkeit nicht, und auch da, wo eine Chrombeizung nötig ist, wie bei der Markscheidenfärbung, ist es besser, die Chrombeizung erst nach Fixation in Formol und zwar mittels der von Weigert angegebenen Chrombeize vorzunehmen. Soll trotzdem die Müllersche Flüssigkeit verwandt werden, so geschieht dies besser mit Formolzusatz in Form der Orthschen Flüssigkeit.

Die Müllersche Flüssigkeit braucht zum Härten von Rückenmark drei bis vier Monate, für Gehirn ein halbes bis ein ganzes Jahr, doch lassen sich diese Zeiten durch Verwendung von Brütofentemperatur erheblich abkürzen.

Bei weitem vorzuziehen gerade im Zentral-Nervensystem ist die gewöhnliche Formolhärtung. Ein Teil der Färbungen, so die wichtige Bielschowsky-Methode, gelingen nach ihr am besten, ein anderer Teil, wie die Weigertsche Markscheidenfärbung und ihre Modifikationen lassen die Formolhärtung, aber mit nachfolgender Chrombeizung, am geeignetsten erscheinen.

Ist Formol auch für einige Modifikationen der Nisslschen Ganglienzellenfärbung empfohlen worden, so erscheint hier doch die originale Nissl-Vorschrift, dass man die Stückchen sofort in 96 %igen Alkohol einlegen soll. als besser.

Bei der Marchi-Färbung legt man am besten direkt in Müllersche Flüssigkeit, event. unter Zusatz von Formol ein. doch gelingt auch sie noch gut nach Vorhärtung in Formol.

beso

mit
ma
(P
ch

si

Weigerts, doch sei bemerkt, dass es für viele Fälle genügt, ja sogar empfehlenswert ist, nach Formolhärtung direkt auf dem Gefriermikrotom zu schneiden und eine ganze Reihe, selbst der feinsten Methoden auch an diesen Schnitten gut ausführbar sind. Naturgemäß wird die Zeit hierdurch ausserordentlich abgekürzt; dies verbietet sich aber andererseits da, wo es auf Serienschnitte ankommt, wie dies z. B. im Zentralnervensystem bei der wichtigen Frage der Lokalisation häufig der Fall ist.

Färbung.

Hier kommen einmal die gewöhnlichen Färbungen zu allgemeinen Übersichtsbildern in Betracht.

Unter diesen steht die Weigertsche Hämatoxylinfärbung in Kombination mit der van Gieson-Methode gerade auch hier an erster Stelle. Gelingt es doch schon mittelst dieser sogar grössere Ansammlungen von Neuroglia färberisch vom Bindegewebe zu trennen. Es erscheinen bei dieser Methode im Nervensystem die Kerne dunkelbraun, Protoplasma hellgelblich rot, Glia gelb, Bindegewebe leuchtend rot, zudem wenn auch unvollkommen, Achsenzylinder rot, Markscheiden gelblich.

Wenn in Formol gehärtet wurde, so beizt man die Schnitte vor der Färbung vorteilhaft mit dünnen Chromsäurelösungen und zwar am besten in der Wärme. Es treten dann die einzelnen Farbtöne schärfer hervor, insbesondere auch die Gelbfärbung der Markscheiden.

Auch nach Härtung in Müllerscher Flüssigkeit gelingt diese Methode besonders gut.

Empfehlenswert ist auch folgende Übersichtsmethode von Rosin (modifizierte Ehrlich-Biondi-Heidenhainsche Triacidfärbung).

1. Härten, Einbetten in Celloidin, Schneiden.
2. Färben 1 Minute in:

   Ehrlichsche Triacidlösung 0,4 ccm,
   $^1/_2$%ige wässerige Säurefuchsinlösung 32 ccm,
   Wasser 100 ccm.

3. Waschen in Wasser 1—2 Minuten, bis keine starken Farbwolken mehr abgehen.
4. Differenzieren in 1%iger Essigsäure 5 bis höchstens 10 Sekunden.
5. Waschen in Wasser.
6. Schnelles Differenzieren und Entwässern in absolutem Alkohol 1 bis höchstens 2 Minuten.
7. Xylol. Balsam.

Die Kerne des Bindegewebes sind blau gefärbt, ebenso die der Glia, Bindegewebe tiefrot, Protoplasma rotviolett, rote Blutkörperchen orange, Achsenzylinder violett, desgl. Neurogliafasern, die Markscheiden sind gelborange (nach Härtung in Formol und Chrom), die Nervenzellen rosa (nach Härtung in Formol und Alkohol) mit blauen Nisslkörnern, das Chromatin ihrer Kerne rotviolett, die Kernkörperchen violett gefärbt. (Die beiden letztgenannten Elemente sind nach Chromhärtung rot gefärbt).

Speziell bei den syphilitischen Veränderungen des Zentral-Nervensystems (und der progressiven Paralyse) kommt es sehr häufig auf eine Färbung der Plasmazellen an.

Am empfehlenswertesten ist hier die Unnasche Färbung mit polychromem Methylenblau oder die Pyronin-Methylgrün-Methode. (Genaueres s. Seite 125.)

Gerade im Nervensystem nun kommen neben solchen Allgemeinfärbungen als ein noch wichtigeres Moment spezifische Färbungen für die einzelnen Nervenbestandteile in Betracht. Selten genügt hier eine Färbung, meist müssen eine grosse Reihe vorgenommen werden, und oft lassen sich diese nicht vorher bestimmen, sondern die Färbungen ergeben sich erst während der Untersuchungen selbst. Gerade deswegen ist es (s. oben) nötig, von vorneherein auf eine so vielseitige Härtung Bedacht zu nehmen, dass alle Methoden noch möglich sind.

Die Zahl der gerade im Nervensystem vorgeschlagenen Methoden und besonders ihrer Modifikationen ist Legion. Wir können nur einige der wichtigsten und zugleich zuverlässigsten hier wiedergeben.

Wegen aller Details sei auf „Die histologischen Untersuchungsmethoden des Nervensystems" von Bayon, sowie „Die Färbetechnik für das Nervensystem" von Pollack und insbesondere „Die Technik der mikroskopischen Untersuchung des Nervensystems" von Spielmeyer (Berlin, 1911) verwiesen.

Es empfiehlt sich für jeden der Bestandteile des Nervensystems, auf die es hauptsächlich ankommt, sich wenigstens eine Methode einzuüben.

Wir werden im Folgenden nach diesen Bestandteilen die Methoden folgendermaßen einteilen:

I. Methoden zur Darstellung der Ganglienzellen.
II. Methoden zur Darstellung der Markscheiden.
III. Methoden zur Darstellung der Achsenzylinder und Neurofibrillen.
IV. Methoden zur Darstellung der Neuroglia.
V. Methoden zur Darstellung der Degenerationen der Nervenfasern.
VI. Methoden zur gleichzeitigen Darstellung mehrerer Elemente (Golgi-Verfahren, intravitale Methylenblaufärbung).
VII. Methoden zur Darstellung speziell peripherer Nerven.

I. Methoden zur Darstellung der Ganglienzellen.

Ausser den allgemeinen Kern- und Plasmafärbungen, insbesondere der van Gieson-Methode, kommt hier die Darstellung der Nisslschen Granula in Betracht, deren Veränderung oder Schwund ja so charakteristisch für Erkrankungen ist.

1. Original-Seifen-Methylenblaufärbung von Nissl.

Sehr kleine Stückchen frischen Gewebes werden in 96%igem Alkohol 5 Tage (2—3 Tage genügen, doch sind 5 Tage vorzuziehen)

unter mehrfachem Wechseln des Alkohols gehärtet. Es muss viel Alkohol verwandt werden.

Die Stückchen legt man am besten auf Filtrierpapier in das Glasgefäss ein.

Nach dieser Härtung bettet Nissl weder in Celloidin noch in Paraffin ein, sondern klebt die Stücke Gewebe, um alle Artefakte zu vermeiden, mit Gummi arabicum direkt auf Blöcke auf und schneidet sie so. Nur dann erkennt Nissl die gewonnenen Bilder der Tigroidschollen als „Äquivalentbilder" an (vergl. seinen Artikel „Nervenzellen" in der Encyclopädie der mikroskopischen Technik).

Zu dem Zweck der Einbettung in Gummi arabicum trocknet man die Unterfläche der Stückchen schnell mit Filtrierpapier und presst diese sofort auf den mit Gummi arabicum bedeckten Holzklotz auf. Die Schicht des Gummis soll nur dünn sein. Block und Gewebe kommen sodann in 96%igen Alkohol, in welchem der Gummi arabicum hart wird und eine weisse Farbe annimmt.

Es können dann Schnitte hergestellt werden, wobei der Block und das Messer stets mit 96%igem Alkohol gut befeuchtet werden sollen.

Die Schnitte werden ebenfalls in 96%igem Alkohol aufgefangen, in welchem sie sich gut ausbreiten.

Das Schneiden ist schwieriger als bei Celloidin- und Paraffinblöcken, gelingt aber auch nach einiger Übung.

Die Schnitte können nicht aufgehoben werden, sondern sollen sofort weiter verarbeitet werden.

Man färbt sie nach Nissl am besten in folgender Mischung:

Methylenblau B. Patent (K. Buchner und Sohn, München) 3,75 gr,
geschabte venezianische Seife 1,75 gr,
Wasser 1000 ccm.

Man schüttelt gut um.

Die Lösung ist erst nach einem Vierteljahr gut zu verwenden, noch ältere Lösungen färben besser. Vor dem Gebrauch soll man die Lösung stets schütteln und dann filtrieren.

Da die Färbung unter schnellem Erwärmen über der Flamme bis Gasbläschen aufsteigen vorgenommen wird, nimmt man sie am besten im Uhrschälchen vor.

Die so überfärbten Schnitte werden in folgender Mischung differenziert:

Anilinöl 10 Teile,
96%iger Alkohol 90 Teile.

Das Anilinöl soll ganz hell und klar sein, ist am besten aus den Höchster Farbwerken zu beziehen und im Dunkeln aufzubewahren. Man stellt sich die Differenzierungsmischung am besten stets erst vor dem Gebrauch her.

Der Schnitt bleibt hierin nur ganz kurz: wenn keine gröberen Farbstoffwolken mehr abgehen, überträgt man ihn schnell auf den Objektträger, trocknet mit Filtrierpapier und bringt Cajeputöl auf den Schnitt.

Die ganzen Manipulationen bis hierher sollen nur etwa 20 Sekunden dauern.

Um das Cajeputöl zu entfernen, trocknet man mit Filtrierpapier und bringt sofort Benzin darauf, lässt dies ablaufen und bedeckt den noch etwas feuchten Schnitt mit Xylol-Kolophonium. Man stellt dies so her, dass man ein Gläschen halb mit Kolophoniumpulver füllt, sodann bis zum Rand Xylol aufgiesst und es unter einer Glocke offen stehen lässt. Die obere Schicht klarer dünner Flüssigkeit giesst man ab und benutzt sie. Statt Xylol kann man auch Benzin anwenden. Man bringt am besten einen Tropfen solchen Kolophoniums auf den feuchten Schnitt, erwärmt leicht, wobei das Kolophonium flüssig wird, wischt das überflüssige Kolophonium am Rand des Schnittes mit Filtrierpapier ab und legt das Deckgläschen darauf. Dann erwärmt man nochmals leicht und drückt leicht auf das Deckgläschen.

Tritt hierbei noch Kolophonium am Rand des Deckgläschens aus, so nimmt man es wiederum mit Filtrierpapier weg und wiederholt das Erwärmen etc. event. nochmals.

Wenn sich beim Einbetten in Xylol-Kolophonium eine milchige Trübung zuerst einstellt, so ist diese harmlos und verschwindet beim Erwärmen bald wieder. Wenn sich gewisse Artefakte während der Färbung einstellen, welche Nissl des genaueren beschreibt, so verschwinden sie wieder während der Differenzierung in Anilin-Alkohol und mit Cajeputöl.

Während aller dieser Manipulationen, welche ebenfalls rasch vor sich gehen sollen, darf der Schnitt nie trocken liegen.

Nissl empfiehlt für den Anfänger eine sehr dünne Lösung von Kolophonium.

Die Präparate halten sich vor Sonnenlicht geschützt gut bis etwa ein halbes Jahr.

Das in Gummi arabicum eingebettete Stück Gewebe hebt man am besten ohne den Holzblock in 96%igem Alkohol auf.

Die Nissl-Methode kann kurz folgendermaßen zusammengefasst werden:

1. Härten in 96%igem Alkohol 3—5 Tage. Aufkleben auf den Holzblock mit Gummi arabicum, Schneiden, Auffangen der Schnitte in 96%igem Alkohol.

2. Färben in der Seifen-Methylenblaumischung über der Flamme bis Blasen aufsteigen.

3. Ganz kurzes Differenzieren in obigem Anilinalkohol.

4. Aufziehen des Schnittes auf den Objektträger, Trocknen, Aufhellen in Cajeputöl.

5. Trocknen, Übergiessen mit Benzin.

6. Abgiessen des Benzins, Einschliessen des feuchten Schnittes in Xylol-Kolophonium, leicht erwärmen.

7. Auflegen des Deckgläschens, leichtes Andrücken, nochmaliges leichtes Erwärmen und Entfernen des überflüssigen Kolophoniums.

Die Kerne der Ganglienzellen erscheinen dann hellblau, die Nisslschen Granula scharf umschrieben dunkelblau. Auch für die Neurogliazellen ist die Methode sehr geeignet.

Statt der Methylenblaumischung sind auch andere Farben, so Toluidinblau, Thionin, Kresylviolett, Dahlia, Bismarckbraun, Neutralrot, und Azur II (1 gr auf 750 ccm Aqua dest. mit 4 Tropfen gesättigter Kaliumkarbonatlösung auf je 10 ccm der Azurlösung [nach Rodenwaldt]) empfohlen worden.

Das Toluidinblau wird z. B. in einer wässerigen Lösung von 1 : 1000 angewendet. Die Schnitte bleiben hierin bis zu einer Stunde, werden in destilliertem Wasser $^1/_4$ Stunde abgespült, in Alkohol differenziert und entwässert, in Xylol aufgehellt und in Kolophonium eingebettet.

Diese einfache Methode ist zu empfehlen. Die Schnitte halten sich relativ gut.

Statt mit Gummi arabicum aufzukleben, kann man auch in der gewohnten Weise einbetten, doch ist dies für Vergleichung der sogenannten Nervenzelläquivalentbilder weniger geeignet. Man wendet dann Celloidineinbettung an. lässt aber in der Celloidinlösung nur kurz und überträgt den Block schnell zur Härtung in 80%igen Alkohol. Man erwärmt dann die Färbungsflüssigkeit nicht so hochgradig und differenziert in 96%igem Alkohol.

Soll eingebettet werden, so ist auch folgende Methode zu empfehlen:

2. Modifikation von Lenhossék.

1. Härten in 20%igem Formol 2 Tage oder in gesättigter Sublimatlösung und gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung zu gleichen Teilen gemischt. (Rabl sches Gemisch. Nachhärten in absol. Alkohol, Einbetten in Paraffin, Schneiden.

2. Färben in gesättigter wässeriger Lösung von Toluidinblau über Nacht, oder von Thionin 5 Minuten.

3. Ganz kurzes Abwaschen in Wasser.

4. Vorsichtiges Differenzieren in absolutem Alkohol oder mit Nisslschem Anilin-Alkohol (letzterer entfärbt etwas langsamer als Alkohol).

5. Aufhellen in Cajeputöl.

6. Ganz kurzes Abspülen in Xylol, Einschliessen in Kolophonium.

Man kann diese Methode auch an Gefrierschnitten anwenden.

Unter den zahlreichen anderen Modifikationen sei noch erwähnt diejenige von van Gehuchten, welcher Paraffinschnitte in der Nisslschen Seifen-Methylenblaulösung bei 35° 5—6 Stunden färbt und dann nach der Nissl-Methode differenziert etc.

sowie die Modifikation von Rosin, welcher nach Formolhärtung in Celloidin einbettet, in gesättigter wässeriger Neutralrotlösung mehrere Stunden färbt, in Wasser auswäscht, in absolutem Alkohol entwässert etc. Das Protoplasma und die Kerne der Zellen erscheinen dann gelblich, die Nissl-Granula und die Kernkörperchen rot. Die Pyronin-Methylgrünmethode (s. S. 125) Unna-Pappenheims färbt die Nissl-Granula schön rot.

Ferner lassen sich die Tigroidschollen mit polychromem Methylenblau (24 Stunden färben und differenzieren in Glyzerin-Äthergemisch) und endlich nach der Methode von Gothard, Luithlen und Sorgo ebenfalls darstellen.

Die komplizierten Methoden von Kodis (Härten in Sublimat, Färben in Molybdänsäure-Hämatoxylin und Lichtgrün), Robertson und Orr (Färben mit Methylviolett und Jodjodkalium), Low, Cox (speziell für Spinalganglienzellen), Azoulay, Roncoroni, Rehm kommen kaum mehr in Betracht.

Hier erwähnt werden sollen noch:

3. die Methode von Bielschowsky-Plien.

1. Härten in Formol, Alkohol, Einbetten, Schneiden.

2. Färben in folgender Mischung 24 Stunden: 50 ccm destilliertes Wasser mit 6—10 Tropfen einer gesättigten wässerigen Lösung von Kresylviolett R R versetzt.

3. Kurzes Abwaschen in Wasser.

4. Differenzieren und Entwässern in steigendem Alkohol.

5. Aufhellen in Xylol oder Cajeputöl.

6. Einschliessen in Balsam.

Die Nissl-Granula treten besonders scharf hervor, auch ist die Methode sehr einfach, gibt aber aus obigen Gründen keine Äquivalentbilder.

4. Die Heldsche Methode. Diese bringt ausser den Nisslschen Granula auch noch die zwischen ihnen gelegenen Protoplasmateile in einer anderen Farbe zur Darstellung.

1. Härten in 96%igem Alkohol oder in Pikrinsäure-Schwefelsäure (200 ccm gesättigte Pikrinsäure, 4 ccm Schwefelsäure, filtrieren und 100 ccm Wasser hinzusetzen). Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten in Paraffin, Schneiden.

2. Färben in:

Erythrosin 1 gr,
Aqua dest. 150 ccm,
Eisessig 2 Tropfen,

unter leichtem Erwärmen 1—2 Minuten.

3. Waschen in Wasser.

4. Färben in einem Gemisch zu gleichen Teilen von
5%igem Azeton in Wasser und der
Nisslschen Methylenblaulösung.

Man erwärmt hier so lange bis kein Acetongeruch mehr abgegeben wird und lässt die Schnitte dann in der Mischung bis diese kalt geworden ist.

5. Differenzieren in 1%iger Alaunlösung bis der Schnitt wieder rot erscheint, einige Sekunden bis einige Minuten.

6. Waschen in Wasser.

7. Kurzes Entwässern in absolutem Alkohol.

8. Xylol, Benzin, Kolophonium.

Nisslsche Granula tief blau mit leicht violettem Einschlag, Protoplasma und Kerne leicht rot, Kernkörperchen blau.

Für die Lipochrome (Pigment der Ganglienzellen) sind die Fettmethoden (s. Seite 148) zu empfehlen.

Man kann auch diese braunen Pigmente nach folgender Methode von Lenhossék darstellen:

1. Beliebiges Härten, Einbetten in Paraffin, Schneiden, Aufkleben der Schnitte, Entparaffinieren, Alkohol.
2. Färben in gesättigter alkoholischer Lösung von Anilinblau, 12 Stunden oder mehr.
3. Waschen in Wasser.
4. Differenzieren in absolutem Alkohol.
5. Xylol. Balsam.

Das Pigment erscheint blauschwarz.

Zur Darstellung der Mitosen im Zentralnervensystem kann man folgende Methode Weigerts benutzen:

1. Härten in 96%igem Alkohol, Einbetten, Herstellen dünner Schnitte.
2. Einlegen in Tinctura Ferri Rademacheri ½ Stunde.
3. Rasches Durchziehen durch Wasser.
4. Färben in:

   Hämatoxylin 1 gr.
   absoluter Alkohol 10 ccm.
   Wasser 100 ccm.

5. Wässern.
6. Differenzieren in saurem Alkohol.
7. 10 Minuten langes Wässern.
8. Entwässern in Alkohol.
9. Xylol. Balsam.

II. Methoden zur Darstellung der Markscheiden.

Die souveräne Methode, welche fast mathematisch genaue Resultate ergibt, und auch zur Darstellung zahlreicher anderer Zellstrukturen von Wichtigkeit geworden ist, ist hier die

1. Weigertsche Methode.

Weigert hat eine ganze Reihe von Modifikationen angegeben, sowohl mit wie ohne Differenzierung, mit Verwendung verschiedener Hämatoxylinlösungen etc., doch ist das Prinzip stets das gleiche. Es handelt sich darum, dass die Stücke zunächst mit Chrom, dann mit Kupfer gebeizt werden, dass die Schnitte sodann mit einer lackbildenden und somit die Markscheiden färbenden Hämatoxylinlösung überfärbt werden, worauf sie in einer mit Borax alkalisch gemachten Ferricyankaliumlösung differenziert werden.

Um durch die grosse Anzahl der Modifikationen keine Verwirrung herbeizuführen, soll hier die Weigertsche Markscheidenmethode nur in einer Form und zwar in derjenigen besprochen werden, wie sie Weigert selbst zum Schluss anwendete, eine Methode, welche für alle Fälle die besten Resultate gibt.

Die erste Beize wird am besten nach Formolhärtung in einer Kalium bichromicum–Fluorchromlösung 1—5 Tage lang vorgenommen. Die [illegible] verwendete Müllersche Flüssigkeit wirkt zu langsam ein.) [illegible] des Fluorchroms wurde ursprünglich Chromalaun verwandt. Die Beizung ist besser am Stück als etwa am Schnitt vorzunehmen. Die zweite Beize ist am besten die der Weigertschen Neuroglia- [illegible] ein Gemisch von Kupfer, Fluorchrom und Essigsäure. [illegible] Färbung diente ursprünglich ein Gemisch von:

Hämatoxylin 1 gr.
Alkohol 10 ccm.
Wasser 90 ccm und
1 ccm gesättigte Lithion carbonicum–Lösung

[illegible] Weigertsches Hämatoxylin- bezeichnet), doch zog Weigert [illegible] Eisenhämatoxylin vor, und zwar dasselbe, welches er sodann als [illegible] differenzierendes Entfärbungsmittel s. S. 104) einführte. Nur dass hier [illegible], welcher hier vor Überfärbung schützen soll, besser [illegible] Dieses Eisenhämatoxylin hat den Vorzug sehr präziser Lack- [illegible] Färbung der Markscheiden, ferner wird bei seiner Verwendung [illegible] der [illegible] Weigertschen Markscheidenfärbung zu verwendenden [illegible] sind folgende:

[illegible]
Kalium bichromicum cum 3 gr.
[illegible] cum 2,5 gr.
Wasser 100 ccm.
Kochen, filtrieren.

[illegible]
Neutrales Cuprum aceticum 3 gr.
[illegible] cum 2,5 gr.
Wasser 100 ccm.
Kochen und [illegible] von Essigsäure (etwa 36% iger)
3 ccm.

Färbeflüssigkeit:
1 Hämatoxylin 1 gr.
96% iger Alkohol 100 ccm.
2. Liquor ferri sesquichlorati 4 ccm.
Wasser 100 ccm.
Gleiche Teile von 1 und 2 werden zum Gebrauch gemischt.

Differenzierungsflüssigkeit:
Ferricyankalium 2,5 gr.
Borax 2 gr.
Wasser 100 ccm.
Alle Flüssigkeiten halten sich gut.

Die Methode gestaltet sich folgendermaßen:

1. Härten in Formol 2—3 Tage.
2. Erste Beize (Chromkalium-Fluorchromgemisch) 4—6 Tage.
3. Ohne zu waschen Nachhärten in steigendem Alkohol im Dunkeln.
4. Einbetten in Celloidin und Einlegen der an der Luft etwas hart gewordenen Celloidinblöcke nicht in Alkohol, sondern zunächst in:
5. Zweite Beize (Kupfer-Fluorchrommischung) 1 Tag bei 37°.
6. Übertragen der Blöcke in 70—80%igen Alkohol, Schneiden.
7. Färben der Schnitte in der Eisenhämatoxylinmischung 24 Std.
8. Wässern der Schnitte $^1/_2$—1 Stunde oder länger.
9. Differenzieren im Borax-Ferricyankaliumgemisch bis die Einteilung in graue und weisse Substanzen hervortritt, am besten mikroskopisch kontrollieren
10. Gründliches Wässern.
11. Entwässern in absolutem Alkohol.
12. Karbolxylol. Xylol. Balsam.

Die Markscheiden erscheinen blauschwarz, sie heben sich sehr scharf von dem ganz leicht hellgelb oder gar nicht gefärbten Untergrund ab.

Eine vollständige Darstellung der Fasern der Commissura anterior wurde von Weigert als Gradmesser einer guten Färbung betrachtet. Meist wird, um elegantere Bilder zu erhalten, zu stark differenziert.

Gleichzeitig färben sich häufig noch rote Blutkörperchen, sowie Kalk, evtl. Fibrin und elastische Fasern mit. Des weiteren das Pigment der Ganglienzellen, Dinge, die man nicht mit den Markscheiden verwechseln kann.

Man kann die Färbung auch an in Müllerscher Flüssigkeit gehärteten Stücken vornehmen, dann fällt die Chromsäurebeizung natürlich weg; sollten sie aber schon lange in Alkohol gelegen haben, so beizt man die Schnitte in $^1/_2$%iger Chromsäure oder in einer anderen Chromsäure vor dem Färben.

Um in Paraffin einbetten zu können, empfiehlt Streeter lange Zeit (Wochen) in Müllerscher Flüssigkeit oder Weigerts erster Beize zu härten, sodann 1—2 Wochen in oft zu wechselnden 80%igen Alkohol einzulegen, eine Durchfärbung des Stückes in Weigertschem Hämatoxylin (4—6 Wochen) vorzunehmen und in Paraffin einzubetten. Schnitte differenziert man dann mit verdünnter Weigertscher Differenzierungsflüssigkeit oder nach Pal (s. unten).

Von den zahlreichen Modifikationen der Weigertschen Markscheidenmethode ist die bei weitem wichtigste die

2. Kultschitzky-Wolterssche Modifikation der Weigertschen Markscheidenfärbung.

1. Härten in Müllerscher Flüssigkeit, oder Erlickischer Lösung (1—2 Minuten), oder besser in Formol mit Nachchromierung in der Weigertschen Chromkaliumbeize, Härten in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin, Schneiden.

Die erste Beize wird am besten nach Formolhärtung in einer Kaliumbichromicum-Fluorchromlösung 4—5 Tage lang vorgenommen. (Die zuerst verwendete Müllersche Flüssigkeit wirkt zu langsam ein.) Statt des Fluorchroms wurde ursprünglich Chromalaun verwandt.

Die Beizung ist besser am Stück als etwa am Schnitt vorzunehmen.

Die zweite Beize ist am besten die der Weigertschen Neurogliamethode, ein Gemisch von Kupfer, Fluorchrom und Essigsäure.

Zur Färbung diente ursprünglich ein Gemisch von:

Hämatoxylin 1 gr,
Alkohol 10 ccm,
Wasser 90 ccm und
1 ccm kaltgesättigte Lithion carbonicum-Lösung

(oft als „Weigertsches Hämatoxylin" bezeichnet), doch zog Weigert später ein Eisenhämatoxylin vor, und zwar dasselbe, welches er sodann als allgemeines Kernfärbungsmittel (s. S. 104) einführte. Nur dass hier der Salzsäurezusatz, welcher dort vor Überfärbung schützen soll, besser wegbleibt. Dieses Eisenhämatoxylin hat den Vorzug sehr präziser Lackbildung zur Färbung der Markscheiden, ferner wird bei seiner Verwendung der Untergrund ganz hell.

Die zur Weigertschen Markscheidenfärbung zu verwendenden Flüssigkeiten sind folgende:

1. Beize:
   Kaliumbichromicum 5 gr,
   Fluorchrom 2,5 gr,
   Wasser 100 ccm.
   Kochen, Filtrieren.
2. Beize:
   Neutrales Cuprum aceticum 5 gr,
   Fluorchrom 2,5 gr,
   Wasser 100 ccm.
   Kochen und dann Hinzufügen von Essigsäure (etwa 36 %iger) 5 ccm.

Farbflüssigkeit:

1. Hämatoxylin 1 gr,
   96 %iger Alkohol 100 ccm,
2. Liquor ferri sesquichlorati 4 ccm,
   Wasser 100 ccm.

Gleiche Teile von 1 und 2 werden zum Gebrauch gemischt.

Differenzierungsflüssigkeit:

Ferricyankalium 2,5 gr,
Borax 2 gr,
Wasser 100 ccm.

Alle Flüssigkeiten halten sich gut.

Die Methode gestaltet sich folgendermaßen:

1. Härten in Formol 2—3 Tage.
2. Erste Beize (Chromkalium-Fluorchromgemisch) 4—6 Tage.
3. Ohne zu waschen Nachhärten in steigendem Alkohol im Dunkeln.
4. Einbetten in Celloidin und Einlegen der an der Luft etwas hart gewordenen Celloidinblöcke nicht in Alkohol, sondern zunächst in:
5. Zweite Beize (Kupfer-Fluorchrommischung) 1 Tag bei 37°.
6. Übertragen der Blöcke in 70—80%igen Alkohol, Schneiden.
7. Färben der Schnitte in der Eisenhämatoxylinmischung 24 Std.
8. Wässern der Schnitte $^1/_2$—1 Stunde oder länger.
9. Differenzieren im Borax-Ferricyankaliumgemisch bis die Einteilung in graue und weisse Substanzen hervortritt, am besten mikroskopisch kontrollieren
10. Gründliches Wässern.
11. Entwässern in absolutem Alkohol.
12. Karbolxylol. Xylol. Balsam.

Die Markscheiden erscheinen blauschwarz, sie heben sich sehr scharf von dem ganz leicht hellgelb oder gar nicht gefärbten Untergrund ab.

Eine vollständige Darstellung der Fasern der Commissura anterior wurde von Weigert als Gradmesser einer guten Färbung betrachtet. Meist wird, um elegantere Bilder zu erhalten, zu stark differenziert.

Gleichzeitig färben sich häufig noch rote Blutkörperchen, sowie Kalk, evtl. Fibrin und elastische Fasern mit. Des weiteren das Pigment der Ganglienzellen, Dinge, die man nicht mit den Markscheiden verwechseln kann.

Man kann die Färbung auch an in Müllerscher Flüssigkeit gehärteten Stücken vornehmen, dann fällt die Chromsäurebeizung natürlich weg; sollten sie aber schon lange in Alkohol gelegen haben, so beizt man die Schnitte in $^1/_2$%iger Chromsäure oder in einer anderen Chromsäure vor dem Färben.

Um in Paraffin einbetten zu können, empfiehlt Streeter lange Zeit (Wochen) in Müllerscher Flüssigkeit oder Weigerts erster Beize zu härten, sodann 1—2 Wochen in oft zu wechselnden 80%igen Alkohol einzulegen, eine Durchfärbung des Stückes in Weigertschem Hämatoxylin (4—6 Wochen) vorzunehmen und in Paraffin einzubetten. Schnitte differenziert man dann mit verdünnter Weigertscher Differenzierungsflüssigkeit oder nach Pal (s. unten).

Von den zahlreichen Modifikationen der Weigertschen Markscheidenmethode ist die bei weitem wichtigste die

2. Kultschitzky-Wolterssche Modifikation der Weigertschen Markscheidenfärbung.

1. Härten in Müllerscher Flüssigkeit, oder Erlickischer Lösung (1—2 Minuten), oder besser in Formol mit Nachchromierung in der Weigertschen Chromkaliumbeize, Härten in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin, Schneiden.

Die erste Beize wird am besten nach Formolhärtung in einer Kaliumbichromicum-Fluorchromlösung 4—5 Tage lang vorgenommen. (Die zuerst verwendete Müllersche Flüssigkeit wirkt zu langsam ein.) Statt des Fluorchroms wurde ursprünglich Chromalaun verwandt.

Die Beizung ist besser am Stück als etwa am Schnitt vorzunehmen.

Die zweite Beize ist am besten die der Weigertschen Neurogliamethode, ein Gemisch von Kupfer, Fluorchrom und Essigsäure.

Zur Färbung diente ursprünglich ein Gemisch von:

Hämatoxylin 1 gr,
Alkohol 10 ccm,
Wasser 90 ccm und
1 ccm kaltgesättigte Lithion carbonicum-Lösung

(oft als „Weigertsches Hämatoxylin" bezeichnet), doch zog Weigert später ein Eisenhämatoxylin vor, und zwar dasselbe, welches er sodann als allgemeines Kernfärbungsmittel (s. S. 104) einführte. Nur dass hier der Salzsäurezusatz, welcher dort vor Überfärbung schützen soll, besser wegbleibt. Dieses Eisenhämatoxylin hat den Vorzug sehr präziser Lackbildung zur Färbung der Markscheiden, ferner wird bei seiner Verwendung der Untergrund ganz hell.

Die zur Weigertschen Markscheidenfärbung zu verwendenden Flüssigkeiten sind folgende:

1. Beize:
   Kaliumbichromicum 5 gr,
   Fluorchrom 2,5 gr,
   Wasser 100 ccm.
   Kochen, Filtrieren.
2. Beize:
   Neutrales Cuprum aceticum 5 gr,
   Fluorchrom 2,5 gr,
   Wasser 100 ccm.
   Kochen und dann Hinzufügen von Essigsäure (etwa 36 %iger) 5 ccm.

Farbflüssigkeit:

1. Hämatoxylin 1 gr,
   96 %iger Alkohol 100 ccm,
2. Liquor ferri sesquichlorati 4 ccm,
   Wasser 100 ccm.

Gleiche Teile von 1 und 2 werden zum Gebrauch gemischt.

Differenzierungsflüssigkeit:

Ferricyankalium 2,5 gr,
Borax 2 gr,
Wasser 100 ccm.

Alle Flüssigkeiten halten sich gut.

Die Methode gestaltet sich folgendermaßen:

1. Härten in Formol 2—3 Tage.
2. Erste Beize (Chromkalium-Fluorchromgemisch) 4—6 Tage.
3. Ohne zu waschen Nachhärten in steigendem Alkohol im Dunkeln.
4. Einbetten in Celloidin und Einlegen der an der Luft etwas hart gewordenen Celloidinblöcke nicht in Alkohol, sondern zunächst in:
5. Zweite Beize (Kupfer-Fluorchrommischung) 1 Tag bei 37°.
6. Übertragen der Blöcke in 70—80%igen Alkohol, Schneiden.
7. Färben der Schnitte in der Eisenhämatoxylinmischung 24 Std.
8. Wässern der Schnitte $^1/_2$—1 Stunde oder länger.
9. Differenzieren im Borax-Ferricyankaliumgemisch bis die Einteilung in graue und weisse Substanzen hervortritt, am besten mikroskopisch kontrollieren
10. Gründliches Wässern.
11. Entwässern in absolutem Alkohol.
12. Karbolxylol. Xylol. Balsam.

Die Markscheiden erscheinen blauschwarz, sie heben sich sehr scharf von dem ganz leicht hellgelb oder gar nicht gefärbten Untergrund ab.

Eine vollständige Darstellung der Fasern der Commissura anterior wurde von Weigert als Gradmesser einer guten Färbung betrachtet. Meist wird, um elegantere Bilder zu erhalten, zu stark differenziert.

Gleichzeitig färben sich häufig noch rote Blutkörperchen, sowie Kalk, evtl. Fibrin und elastische Fasern mit. Des weiteren das Pigment der Ganglienzellen, Dinge, die man nicht mit den Markscheiden verwechseln kann.

Man kann die Färbung auch an in Müllerscher Flüssigkeit gehärteten Stücken vornehmen, dann fällt die Chromsäurebeizung natürlich weg; sollten sie aber schon lange in Alkohol gelegen haben, so beizt man die Schnitte in $^1/_2$%iger Chromsäure oder in einer anderen Chromsäure vor dem Färben.

Um in Paraffin einbetten zu können, empfiehlt Streeter lange Zeit (Wochen) in Müllerscher Flüssigkeit oder Weigerts erster Beize zu härten, sodann 1—2 Wochen in oft zu wechselnden 80%igen Alkohol einzulegen, eine Durchfärbung des Stückes in Weigertschem Hämatoxylin (4—6 Wochen) vorzunehmen und in Paraffin einzubetten. Schnitte differenziert man dann mit verdünnter Weigertscher Differenzierungsflüssigkeit oder nach Pal (s. unten).

Von den zahlreichen Modifikationen der Weigertschen Markscheidenmethode ist die bei weitem wichtigste die

2. Kultschitzky-Wolterssche Modifikation der Weigertschen Markscheidenfärbung.

1. Härten in Müllerscher Flüssigkeit, oder Erlickischer Lösung (1—2 Minuten), oder besser in Formol mit Nachchromierung in der Weigertschen Chromkaliumbeize, Härten in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin, Schneiden.

Die erste Beize wird am besten nach Formolhärtung in einer Kaliumbichromicum-Fluorchromlösung 4—5 Tage lang vorgenommen. (Die zuerst verwendete Müllersche Flüssigkeit wirkt zu langsam ein.) Statt des Fluorchroms wurde ursprünglich Chromalaun verwandt.

Die Beizung ist besser am Stück als etwa am Schnitt vorzunehmen.

Die zweite Beize ist am besten die der Weigertschen Neurogliamethode, ein Gemisch von Kupfer, Fluorchrom und Essigsäure.

Zur Färbung diente ursprünglich ein Gemisch von:

Hämatoxylin 1 gr,
Alkohol 10 ccm,
Wasser 90 ccm und
1 ccm kaltgesättigte Lithion carbonicum-Lösung

(oft als „Weigertsches Hämatoxylin" bezeichnet), doch zog Weigert später ein Eisenhämatoxylin vor, und zwar dasselbe, welches er sodann als allgemeines Kernfärbungsmittel (s. S. 104) einführte. Nur dass hier der Salzsäurezusatz, welcher dort vor Überfärbung schützen soll, besser wegbleibt. Dieses Eisenhämatoxylin hat den Vorzug sehr präziser Lackbildung zur Färbung der Markscheiden, ferner wird bei seiner Verwendung der Untergrund ganz hell.

Die zur Weigertschen Markscheidenfärbung zu verwendenden Flüssigkeiten sind folgende:

1. Beize:
   Kaliumbichromicum 5 gr,
   Fluorchrom 2,5 gr,
   Wasser 100 ccm.
   Kochen, Filtrieren.
2. Beize:
   Neutrales Cuprum aceticum 5 gr,
   Fluorchrom 2,5 gr,
   Wasser 100 ccm.
   Kochen und dann Hinzufügen von Essigsäure (etwa 36 %iger) 5 ccm.

Farbflüssigkeit:

1. Hämatoxylin 1 gr,
   96 %iger Alkohol 100 ccm,
2. Liquor ferri sesquichlorati 4 ccm,
   Wasser 100 ccm.

Gleiche Teile von 1 und 2 werden zum Gebrauch gemischt.

Differenzierungsflüssigkeit:

Ferricyankalium 2,5 gr,
Borax 2 gr,
Wasser 100 ccm.

Alle Flüssigkeiten halten sich gut.

Die Methode gestaltet sich folgendermaßen:

1. Härten in Formol 2—3 Tage.
2. Erste Beize (Chromkalium-Fluorchromgemisch) 4—6 Tage.
3. Ohne zu waschen Nachhärten in steigendem Alkohol im Dunkeln.
4. Einbetten in Celloidin und Einlegen der an der Luft etwas hart gewordenen Celloidinblöcke nicht in Alkohol, sondern zunächst in:
5. Zweite Beize (Kupfer-Fluorchrommischung) 1 Tag bei 37°.
6. Übertragen der Blöcke in 70—80%igen Alkohol, Schneiden.
7. Färben der Schnitte in der Eisenhämatoxylinmischung 24 Std.
8. Wässern der Schnitte $^1/_2$—1 Stunde oder länger.
9. Differenzieren im Borax-Ferricyankaliumgemisch bis die Einteilung in graue und weisse Substanzen hervortritt, am besten mikroskopisch kontrollieren
10. Gründliches Wässern.
11. Entwässern in absolutem Alkohol.
12. Karbolxylol. Xylol. Balsam.

Die Markscheiden erscheinen blauschwarz, sie heben sich sehr scharf von dem ganz leicht hellgelb oder gar nicht gefärbten Untergrund ab.

Eine vollständige Darstellung der Fasern der Commissura anterior wurde von Weigert als Gradmesser einer guten Färbung betrachtet. Meist wird, um elegantere Bilder zu erhalten, zu stark differenziert.

Gleichzeitig färben sich häufig noch rote Blutkörperchen, sowie Kalk, evtl. Fibrin und elastische Fasern mit. Des weiteren das Pigment der Ganglienzellen, Dinge, die man nicht mit den Markscheiden verwechseln kann.

Man kann die Färbung auch an in Müllerscher Flüssigkeit gehärteten Stücken vornehmen, dann fällt die Chromsäurebeizung natürlich weg; sollten sie aber schon lange in Alkohol gelegen haben, so beizt man die Schnitte in $^1/_2$%iger Chromsäure oder in einer anderen Chromsäure vor dem Färben.

Um in Paraffin einbetten zu können, empfiehlt Streeter lange Zeit (Wochen) in Müllerscher Flüssigkeit oder Weigerts erster Beize zu härten, sodann 1—2 Wochen in oft zu wechselnden 80%igen Alkohol einzulegen, eine Durchfärbung des Stückes in Weigertschem Hämatoxylin (4—6 Wochen) vorzunehmen und in Paraffin einzubetten. Schnitte differenziert man dann mit verdünnter Weigertscher Differenzierungsflüssigkeit oder nach Pal (s. unten).

Von den zahlreichen Modifikationen der Weigertschen Markscheidenmethode ist die bei weitem wichtigste die

2. Kultschitzky-Wolterssche Modifikation der Weigertschen Markscheidenfärbung.

1. Härten in Müllerscher Flüssigkeit, oder Erlickischer Lösung (1—2 Minuten), oder besser in Formol mit Nachchromierung in der Weigertschen Chromkaliumbeize, Härten in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin, Schneiden.

Die erste Beize wird am besten nach Formolhärtung in einer Kaliumbichromicum-Fluorchromlösung 4—5 Tage lang vorgenommen. (Die zuerst verwendete Müllersche Flüssigkeit wirkt zu langsam ein.) Statt des Fluorchroms wurde ursprünglich Chromalaun verwandt.

Die Beizung ist besser am Stück als etwa am Schnitt vorzunehmen.

Die zweite Beize ist am besten die der Weigertschen Neurogliamethode, ein Gemisch von Kupfer, Fluorchrom und Essigsäure.

Zur Färbung diente ursprünglich ein Gemisch von:

Hämatoxylin 1 gr,
Alkohol 10 ccm,
Wasser 90 ccm und
1 ccm kaltgesättigte Lithion carbonicum-Lösung

(oft als „Weigertsches Hämatoxylin" bezeichnet), doch zog Weigert später ein Eisenhämatoxylin vor, und zwar dasselbe, welches er sodann als allgemeines Kernfärbungsmittel (s. S. 104) einführte. Nur dass hier der Salzsäurezusatz, welcher dort vor Überfärbung schützen soll, besser wegbleibt. Dieses Eisenhämatoxylin hat den Vorzug sehr präziser Lackbildung zur Färbung der Markscheiden, ferner wird bei seiner Verwendung der Untergrund ganz hell.

Die zur Weigertschen Markscheidenfärbung zu verwendenden Flüssigkeiten sind folgende:

1. Beize:
   Kaliumbichromicum 5 gr,
   Fluorchrom 2,5 gr,
   Wasser 100 ccm.
   Kochen, Filtrieren.
2. Beize:
   Neutrales Cuprum aceticum 5 gr,
   Fluorchrom 2,5 gr,
   Wasser 100 ccm.
   Kochen und dann Hinzufügen von Essigsäure (etwa 36 %iger) 5 ccm.

Farbflüssigkeit:

1. Hämatoxylin 1 gr,
   96 %iger Alkohol 100 ccm,
2. Liquor ferri sesquichlorati 4 ccm,
   Wasser 100 ccm.

Gleiche Teile von 1 und 2 werden zum Gebrauch gemischt.

Differenzierungsflüssigkeit:

Ferricyankalium 2,5 gr,
Borax 2 gr,
Wasser 100 ccm.

Alle Flüssigkeiten halten sich gut.

Die Methode gestaltet sich folgendermaßen:

1. Härten in Formol 2—3 Tage.
2. Erste Beize (Chromkalium-Fluorchromgemisch) 4—6 Tage.
3. Ohne zu waschen Nachhärten in steigendem Alkohol im Dunkeln.
4. Einbetten in Celloidin und Einlegen der an der Luft etwas hart gewordenen Celloidinblöcke nicht in Alkohol, sondern zunächst in:
5. Zweite Beize (Kupfer-Fluorchrommischung) 1 Tag bei 37°.
6. Übertragen der Blöcke in 70—80%igen Alkohol, Schneiden.
7. Färben der Schnitte in der Eisenhämatoxylinmischung 24 Std.
8. Wässern der Schnitte $^1/_2$—1 Stunde oder länger.
9. Differenzieren im Borax-Ferricyankaliumgemisch bis die Einteilung in graue und weisse Substanzen hervortritt, am besten mikroskopisch kontrollieren
10. Gründliches Wässern.
11. Entwässern in absolutem Alkohol.
12. Karbolxylol. Xylol. Balsam.

Die Markscheiden erscheinen blauschwarz, sie heben sich sehr scharf von dem ganz leicht hellgelb oder gar nicht gefärbten Untergrund ab.

Eine vollständige Darstellung der Fasern der Commissura anterior wurde von Weigert als Gradmesser einer guten Färbung betrachtet. Meist wird, um elegantere Bilder zu erhalten, zu stark differenziert.

Gleichzeitig färben sich häufig noch rote Blutkörperchen, sowie Kalk, evtl. Fibrin und elastische Fasern mit. Des weiteren das Pigment der Ganglienzellen, Dinge, die man nicht mit den Markscheiden verwechseln kann.

Man kann die Färbung auch an in Müllerscher Flüssigkeit gehärteten Stücken vornehmen, dann fällt die Chromsäurebeizung natürlich weg; sollten sie aber schon lange in Alkohol gelegen haben, so beizt man die Schnitte in $^1/_2$%iger Chromsäure oder in einer anderen Chromsäure vor dem Färben.

Um in Paraffin einbetten zu können, empfiehlt Streeter lange Zeit (Wochen) in Müllerscher Flüssigkeit oder Weigerts erster Beize zu härten, sodann 1—2 Wochen in oft zu wechselnden 80%igen Alkohol einzulegen, eine Durchfärbung des Stückes in Weigertschem Hämatoxylin (4—6 Wochen) vorzunehmen und in Paraffin einzubetten. Schnitte differenziert man dann mit verdünnter Weigertscher Differenzierungsflüssigkeit oder nach Pal (s. unten).

Von den zahlreichen Modifikationen der Weigertschen Markscheidenmethode ist die bei weitem wichtigste die

2. Kultschitzky-Wolterssche Modifikation der Weigertschen Markscheidenfärbung.

1. Härten in Müllerscher Flüssigkeit, oder Erlickischer Lösung (1—2 Minuten), oder besser in Formol mit Nachchromierung in der Weigertschen Chromkaliumbeize, Härten in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin, Schneiden.

2. Färben der Schnitte 24 Stunden bei 37 ° in folgender Lösung:

Hämatoxylin 1 gr gelöst in
10 ccm abs. Alkohol,
2 %ige Essigsäure 90 ccm.

Bei weitem am besten ist eine alte Hämatoxylinlösung.

3. Eintauchen der Schnitte in Müllersche Flüssigkeit.

4. Übertragen der Schnitte in $^1/_3$ %ige Lösung von übermangansaurem Kalium.

5. Abspülen in Wasser.

6. Differenzieren in Oxalsäure etc. (s. unten unter Pal).

7. Gründliches Auswaschen in Leitungswasser mit etwas Salmiakzusatz.

8. Entwässern in absolutem Alkohol.

9. Xylol. Balsam.

Die Differenzierung wird nach dem Palschen Verfahren vorgenommen, Genaueres s. deswegen unten. Eventuell wiederholt man die Differenzierung besser mehrfach. Man muss ebenfalls unter dem Mikroskop kontrollieren. Nachdem die Schnitte eine Stunde in der Differenzierungsflüssigkeit gewesen sind, wechselt man dieselbe besser. Die Markscheiden sind ebenfalls blauschwarz und sehr scharf gefärbt, und die Methode ist sehr sicher zur Darstellung aller markscheidenhaltigen Nervenfasern. Die Sicherheit dieser Modifikation gewährleistet ihr daher besondere Bedeutung, wenn es sich um einen sicheren Nachweis des Ausfalls weniger Markscheiden handelt.

3. Modifikation der Weigertschen Methode nach Pal.

Die Differenzierung wird hier mittels der von Lustgarten zuerst eingeführten Kalium hypermanganicum- und Natriumsulphit-Methode vorgenommen.

1. Härtung in Müllerscher Flüssigkeit oder doppelchromsaurem Kalium, Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin, Schneiden.

2. Färben in Weigerts Lithion-Hämatoxylin (eine Verkupferung der Schnitte wird nicht vorgenommen), oder in einer $^3/_4$ %igen wässerigen, warm gelösten Hämatoxylinlösung, der nach dem Abkühlen etwas Alkohol und gerade vor dem Färben auf je 100 ccm 2 ccm einer gesättigten wässerigen Lithion carbonicum-Lösung zugesetzt wird (von Pal später empfohlen).

3. Waschen in Leitungswasser, welchem eventuell 1—2 % Lithion carbonicum zugefügt ist, bis der Schnitt dunkelblau erscheint.

4. Übertragen des Schnittes in $^1/_4$ %ige wässerige Lösung von Kalium hypermanganicum 20—30 Sekunden.

5. Waschen in Wasser.

6. Einlegen der Schnitte in:
Oxalsäure 0,5 gr,
Kaliumsulfit (K_2SO_3) 0,5 gr,
Wasser 100 ccm;
$^1/_2$ bis mehrere Minuten, bis die graue Substanz farblos erscheint, während die weisse blau bleibt.

7. Gründliches Wässern.

8. Entwässern in absolutem Alkohol.

9. Karbolxylol. Xylol. Balsam.

Wenn die Differenzierung nicht hinreichend ist, so wird nach Nr. 7 nochmals in Nr. 4 eingelegt und der Prozess nochmals bis Nr. 7 durchlaufen.

Die Differenzierung geht plötzlicher vor sich, als bei dem Weigertschen Originalverfahren, und die Resultate sind keine so konstanten und sicheren wie dort.

Der Vorzug der Palschen Modifikation, dass der Grund fast weiss erscheint (besonders wichtig bei Mikrophotographieen), wird durch die neue Weigertsche Eisenhämatoxylinlösung sowie durch die Kultschitzky-Wolterssche Modifikation bei grösserer Sicherheit, dass alle Markscheiden dargestellt sind, fast ebenso erreicht.

Weitere Modifikationen der Weigertschen Methode, wie die von Vassale, Flechsig, Heilmayer, Rossi, Haug, Kaiser, Meyer, Poetter etc. etc. können hier nur genannt werden.

Es soll noch erwähnt werden, dass man bei der Weigertschen Markscheidenfärbung auch eine Nachfärbung mit der van Gieson-lösung vornehmen kann, wodurch gleichzeitig Glia und Bindegewebe gefärbt erscheinen. Doch darf diese nur sehr kurz vor sich gehen, und man wendet sie am besten nur bei mit Hämatoxylin überfärbten (d. h. also nur wenig differenzierten) Schnitten an, da die Pikrinsäure der van Giesonlösung die Markscheidenfärbung differenziert und somit diese sonst zu leicht ausblasst.

Es gelingt auch, Markscheidenfärbungen an Gefrierschnitten vorzunehmen.

Empfohlen wird das Verfahren nach Kultschitzky an Gefrierschnitten, welche unter Erwärmen in einer $^1/_2$%igen Chromsäurelösung gebeizt sind.

Sehr empfehlenswert ist folgende Methode, welche mir schöne und sichere Bilder geliefert hat.

4. Markscheidenmethode am Gefrierschnitt nach Gierlich-G. Herxheimer.

1. Härten in Formol 24 Stunden, Schneiden auf dem Gefriermikrotom.

2. Beizen der Schnitte in: Liquor ferri sesquichlorati etwa zur Hälfte mit Wasser verdünnt 24 Stunden (eventl. kürzer).

3. Übertragen in die Weigertsche Eisenhämatoxylinlösung, 24 bis 48 Stunden.

4. Wässern.

5. Differenzieren in Weigerts Borax-Ferricyankaliumgemisch.

6. Gründliches Wässern.

7. Entwässern in absolutem Alkohol.

8. Karbolxylol. Xylol. Balsam.

Eine entsprechende Methode hat Stoeltzner für Celloidinschnitte empfohlen.

Des weiteren gibt gute Resultate:

5. Die Markscheidenmethode am Gefrierschnitt nach Spielmeyer.

1. Härten in Formol (3 Tage), mehrere Stunden wässern, Schneiden auf dem Gefriermikrotom (25—35 μ).

2. Beizen in $2^1/_2$ %iger Lösung von schwefelsaurem Eisenammoniumoxyd 6 Stunden.

3. Abspülen in Wasser.

4. Einlegen in 70%igen Alkohol 10 Minuten.

5. Färben in alter Hämatoxylinlösung:

10%ige (absolut-) alkoholische Hämatoxylinlösung 5 Teile,
Aqua destillata 100 Teile

12—24 Stunden.

6. Abspülen in Wasser.

7. Differenzieren in obiger Lösung von schwefelsaurem Eisenammoniumoxyd $^1/_2$ Stunde oder länger; dazwischen mehrfach in Wasser abspülen. (Kontrolle unter dem Mikroskop.)

8. Wässern.

9. Entwässern in absolutem Alkohol.

10. Xylol. Balsam.

(Glasnadeln benutzen.)

Die Hämatoxylinlösung verwendet man am besten öfters. Ist die Färbung nicht völlig gelungen, so wiederholt man Färbung und Differenzierung.

Man kann auch eine schnelle Färbung der Markscheiden vornehmen, indem man Gefrierschnitte mit Scharlach R-Lösung (s. unter Fett) färbt. Hierbei färben sich die Markscheiden hellgelblich-rot mit, doch kann dieses Verfahren nur zur schnellen Orientierung, besonders bei Markscheidendegenerationen (s. unten) dienen.

6. Fränkelsche Markscheidenfärbung mit polychromem Methylenblau.

1. Härten in Formol und Beizen in Weigerts Kaliumbichromat-Fluorchromgemisch. Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten, Schneiden.

2. Färben der Schnitte in polychromem Methylenblau 12—24 Stunden.

3. Abgiessen der Farblösung, Aufgiessen von destilliertem Wasser auf die Schnitte in das Schälchen.

4. Übertragen der Schnitte mittels Spatels in eine gesättigte wässerige Tanninlösung 4—6 Stunden, bis graue und weisse Substanzen sich unterscheiden.

5. Wässern in destilliertem Wasser, wechseln bis dieses klar bleibt.

Dann Nr. 2, 3, 4 und 5 wiederholen (eventl. 4 länger ausdehnen).

6. Entwässern in 96%igem Alkohol.

7. Bergamotteöl.

8. Xylol. Balsam.

Das Methylenblau kann öfters verwendet werden. Bei dem Nachhärten in steigendem Alkohol muss der 80%ige solange gewechselt werden und die Stücke in ihm verweilen, bis der Alkohol vollständig klar bleibt.

Bei Gehirnschnitten muss man bis 24 Stunden färben und am besten eben solange in der Tanninlösung differenzieren.

Die Markscheiden sind tiefblau gefärbt, gleichzeitig färben sich Bakterien mit. Die Färbung gibt schöne Bilder, doch ist die Weigertsche Methode prägnanter.

Die Färbungsmethoden von Schrötter mit Galleïn, von Mosse mit Argentamin und die zahlreichen Methoden, welche Osmiumsäure verwenden, so die Methoden von Exner, Heller, Robertson und Orr bieten keine besonderen Vorzüge und stehen dem klassischen Weigertschen Verfahren bedeutend nach.

Die Weigertsche Methode selbst, eventuell in der Modifikation von Kultschitzky-Wolters, gibt die besten Resultate. Des weiteren sind die Methoden für Gefrierschnitte zu empfehlen.

III. Methoden zur Darstellung der Achsenzylinder und Neurofibrillen.

Zur Darstellung der Achsenzylinder sind eine grosse Reihe Methoden angegeben worden, aber im Gegensatz zur Markscheidenfärbung besitzen wir hier keine für alle Fälle völlig zuverlässige, elektive Methode.

Wir können dieselben in drei grosse Gruppen einteilen:

a) Färbungen mit Karmin oder Hämatoxylin, oder Anilinfarben, welche aber die Achsenzylinder nicht elektiv darstellen, sondern Gliafasern, Ganglienzellen etc. mitfärben. Hierher gehört auch die zu Übersichtsschnitten schon empfohlene van Giesonmethode.

b) Gewisse Methoden, welche nur bei markscheidenhaltigen Nervenfasern anwendbar sind, weil sie offenbar nicht die Achsenzylinder selbst, sondern eine dünne, diese umgebende Schicht der Markscheiden (das sog. Myeloaxostroma) darstellen.

c) Die die Achsenzylinder bisher am besten darstellenden Methoden mittels Silberimprägnierung.

Letztere sind die bei weitem am meisten zu empfehlenden.

a) Färbungen mit Karmin, Hämatoxylin, Anilinfarben.

Karminfärbungen.

Sie haben zumeist zurzeit nur noch historisches Interesse. Bei diesen (ältesten) Methoden ist es am besten, in dünnen Lösungen langsam zu färben.

Verdünnte Lösungen von Lithionkarmin oder besonders Ammoniakkarmin färben die Achsenzylinder, aber ebenso das Zwischengewebe, Kerne etc. rot. Am besten vermeidet man vor der Färbung den Alkohol.

Viel gebraucht werden:

1. Methode von Schmaus-Chilesotti mittels Urankarmin.

1. Härten in Müllerscher Flüssigkeit oder Formol etc. Nachhärten in Alkohol im Dunkeln, Einbetten, Schneiden. Man kann auch Gefriermikrotomschnitte verwenden.

2. Färben in folgendem Gemisch:

Karminsaures Natrium 1 gr,
Urannitrat 0,5 gr,

werden in etwas Wasser verrieben und dann 100 ccm destilliertes Wasser zugesetzt, es wird eine halbe Stunde gekocht und nach dem Erkalten filtriert. Gerade vor dem Gebrauch setzt man 2 Tropfen Salzsäure-Alkohol auf je 1 ccm der Farblösung hinzu.

Hierin färbt man Gefrierschnitte von in Chromlösungen gehärteten Stücken 5—10 Minuten, Formol-Gefrierschnitte oder Schnitte von eingebettetem Objekt 15 bis 20 Minuten.

3. Eventuell Differenzieren in Salzsäurealkohol einige Sekunden.

4. Waschen in Wasser.

5. Differenzieren in absolutem Alkohol.

6. Karbolxylol. Xylol. Balsam.

Achsenzylinder, interstitielles Gewebe und Zellen sind rot gefärbt, die Markscheiden nach Härtung in Müllerscher Flüssigkeit grün-gelblich, sonst ungefärbt.

2. Chilesottische neuere Methode.

1. Härten in Orthscher Flüssigkeit 4 Tage (oder in Müllerschem Gemisch mehrere Monate).

2. Einlegen der Stücke in die erste Weigertsche Beize 5 Tage.

3. Nachhärten im Dunkeln in steigendem Alkohol, Celloidineinbetten, Schneiden, Übertragen der Stücke in Wasser.

4. Färben 20 Stunden oder mehr in folgender Lösung:

1 gr feingepulvertes Karminnakarat (Merck) wird in 250 ccm Leitungswasser 30 Minuten gekocht.

Nach 24 Stunden wird dekantiert.

Zu je 100 ccm werden 3 ccm Salzsäurealkohol hinzugefügt, gründlich geschüttelt und nach 24 Stunden wieder dekantiert.

5. Wässern.

6. Einlegen in eine 0,04 %ige wässerige Lösung von Kalium hypermanganicum (d. h. 1 Teil der Palschen Lösung mit 5 Teilen Wasser verdünnt) 30 Sekunden.

7. Übertragen in (etwa 5 %ige) Schwefelsäure $^1/_4$—1 Minute.

8. Gründliches Wässern.

Nr. 6, 7 und 8 sollen so oft wiederholt werden (5—10 mal), bis die Schnitte rosarot gefärbt sind, wobei man allmählich den Aufenthalt in Nr. 8 abkürzt (dies ist der Hauptpunkt der ganzen Methode).

9. Entwässern in 96 %igem Alkohol.

10. Karbolxylol. Xylol. Balsam.

Achsenzylinder und Ganglienzellen rot, Markscheiden und Neuroglia ungefärbt, rote Blutkörperchen, Kerne, Bindegewebe zuweilen rot.

Hämatoxylinfärbungen.

3. Mallorysche Methode.

1. Fixieren, Härten, Einbetten, Schneiden.

2. Färben 20 Min. bis 1 Stunde in:

Hämatoxylin 1,75 gr,
10 %ige Phosphormolybdänsäure 10,0 ccm,
crist. Karbolsäure 5 gr,
Aqua dest. 200 ccm.

Die Lösung muss einige Wochen am Sonnenlicht reifen und ist vor dem Gebrauch zu filtrieren.

3. Differenzieren in mehrmals zu wechselndem 50 %igem Alkohol, etwa $^1/_4$ Stunde.

4. Entwässern in abs. Alk. (kurz).

5. Xylol. Balsam.

Achsenzylinder und Gliafasern sind dunkelblau gefärbt.

4. Wolterssche Methode.

1. Härten im Dunkeln 24 Stunden in einer gesättigten Lösung von schwefelsaurem Kupfer und Kalium bichromicum in 25 %igem Alkohol, dem man auf je 100 ccm 5—6 Tropfen Eisessig zugefügt hat.

Nachhärten in absolutem Alkohol, Einbetten in Celloidin, Schneiden.

2. Waschen der Schnitte 24 Stunden in:

10 %iges wässeriges Vanadium chloratum 1 Teil,
8 %iges Aluminium acet. 4 Teile.

3. Waschen in Wasser 10 Minuten.

4. Färben 24 Stunden bei 37° in:

Hämatoxylin 2 gr,
absoluter Alkohol, (soviel wie zu der Lösung des Hämatoxylins nötig ist),
2 %ige Essigsäure 100 ccm.

5. Differenzieren in schwachem Salzsäurealkohol, bis die Schnitte hellblau sind.

6. Waschen in dünnem (50—60 %igem) Alkohol.

7. Entwässern in absolutem Alkohol.

8. Xylol. Balsam.

Achsenzylinder, Ganglienzellen und Neuroglia dunkelblau.

Färbungen mit Anilinfarben.

5. Nigrosinmethode.

1. Härten am besten in Orthschem Gemisch, Wässern, Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten, Schneiden.
2. Färben in 0,2 %iger wässeriger Lösung von Nigrosin 5—10 Minuten.
3. Wässern.
4. Entwässern in absolutem Alkohol.
5. Xylol. Balsam.

Achsenzylinder, Zwischengewebe, Ganglienzellen grau-blau.

6. Sahlische Methode mit Methylenblau.

1. Härten in 3—4 %iger Kaliumbichromicumlösung.

Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin, Entcelloidinieren der Schnitte in Alkohol-Äther.

2. Färben der Schnitte in gesättigter wässeriger Methylenblaulösung mehrere Stunden.
3. Kurzes Wässern.
4. Gegenfärben in gesättigter, wässeriger Lösung von Säurefuchsin 5 Minuten.
5. Kurzes Wässern.
6. Differenzieren in schwach alkalisch gemachtem Alkohol, einige Sekunden.
7. Gründliches Wässern.
8. Entwässern in absolutem Alkohol.
9. Xylol. Balsam.

Achsenzylinder etc. erscheinen rot.

7. Stroebesche Methode mit Anilinblau.

1. Härten in Müllerscher Flüssigkeit, direktes Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin, Schneiden.
2. Färben in frisch bereiteter, konzentrierter, wässeriger Lösung von Anilinblau $^1/_2$—1 Stunde.
3. Wässern.
4. Differenzieren in absolutem Alkohol, dem 20—30 Tropfen folgender Mischung zugesetzt werden:

abs. Alkohol 100 ccm,
Kalium causticum 1 gr,

lösen, nach 24 Stunden filtrieren.

Man differenziert eine bis mehrere Minuten, bis der Schnitt durchscheinend hellbräunlich-rot ist.

5. Wässern in destilliertem Wasser etwa 5 Minuten, bis der Schnitt hellblau erscheint.
6. Gegenfärben in einer zur Hälfte mit Wasser verdünnten gesättigten wässerigen Lösung von Safranin $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde.
7. Differenzieren und Entwässern in absolutem Alkohol.
8. Aufhellen in Nelkenöl oder Xylol. Balsam.

Die Achsenzylinder sind dunkelblau, die Markscheiden meist rot-gelb, Kerne dunkelrot gefärbt.

Mann hat die Methode für Paraffinschnitte etwas modifiziert.

b) Methoden zur Darstellung der Achsenzylinder (bezw. des sogen. Myeloaxoplasma) nur an markscheidenhaltigen Nerven.

1. Methode von Fayersztajn.

1. Härten in Formol, Gefriermikrotomschnitte.
2. Beizen in $^1/_4$—$^1/_2$ %iger wässeriger Chromsäurelösung 5—24 Stunden.
3. Wässern, am besten in warmem Wasser, mehrere Male wechseln 10 Minuten.
4. Färben in Weigertscher oder Kultschitzkyscher Hämatoxylinlösung 2—6 Stunden.
5. Differenzieren und Weiterbehandeln nach der Palschen Methode (s. Seite 302) mit hypermangansaurem Kalium etc.

Die Methode beruht darauf, dass bei Vermeidung des Alkohols und Äthers der Einbettung bei der Weigert-Palschen Markscheidenmethode sich nicht die Markscheide, sondern der Achsenzylinder, bezw. nur das oben erwähnte Myeloaxostroma, färbt und zwar dunkelblau.

2. Methode von Strähuber.

1. Fixieren in Formol oder anderen Fixationsflüssigkeiten (ausser Alkohol).
2. Beizen 5 Tage in Weigerts älterer Markscheidenbeize (s. S. 300).

Doppelchromsaures Kalium 5 gr,
Chromalaun 2 gr,
Wasser 100 ccm.

Durch Kochen lösen und filtrieren.

3. Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin, Schneiden.
4. Färben der Schnitte in gesättigter wässeriger Lösung von Anilinblau 12 Stunden.
5. Differenzieren nach Pal (s. Seite 302) oder in Wasser, welchem einige Tropfen unterchlorigsaures Natrium beigefügt sind.
6. Wässern.
7. Entwässern in Alkohol.
8. Xylol. Balsam.

Die Achsenzylinder bezw. das Myeloaxostroma sind blau gefärbt.

Man kann auch eine Gegenfärbung in alkoholischem Eosin vornehmen (24 Stunden).

3. Methode von Kaplan.

1. Härten in Müllerscher Flüssigkeit 3 Monate und länger, Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten (bei Celloidineinbettung möglichst schnell verfahren), Schneiden.
2. Färben in 10 %iger frisch bereiteter Lösung von Anthracen-Eisengallustinte (Grübler) 3 Tage bei 35°.
3. Abspülen in Wasser.
4. Differenzieren nach der Palschen Methode (s. S. 302).
5. Wässern.
6. Gegenfärben in $^1/_{10}$ %iger Fuchsinlösung.
7. Entwässern in absolutem Alkohol.
8. (Karbolxylol), Xylol. Kolophonium.

Der Achsenzylinder bzw. das Myeloaxostroma ist dunkel stahlblau auf farblosem Grund dargestellt.

c) Methoden zur exakten Darstellung der Achsenzylinder und Neurofibrillen, ersterer auch in marklosen Nerven.

Es können bisher lediglich Silberimprägnationen dazu verwandt werden. Hier beherrschen das Feld die von zwei Autoren angegebene Methoden.

I. Die Bielschowskysche Methode mit ihren Modifikationen.

II. Die zahlreichen Methoden von Ramòn y Cajal.

1. Bielschowsky-Methode.

Diese, welche wir im ausgedehntesten Maße benutzt und ausgezeichnet gefunden haben, und welche auch an pathologischem Material vorzügliche Resultate gibt, können wir besonders empfehlen und setzen sie daher an erste Stelle.

Die Methode, welche Achsenzylinder und Fibrillen schwarz darstellt, ist bereits auf Seite 128 zur Färbung von Bindegewebe beschrieben, wir können deshalb auf diese Darstellung verweisen.

Kommt es darauf an, dass das Bindegewebe nicht mitgefärbt wird, sodass nur Achsenzylinder und Neurofibrillen dargestellt erscheinen, so fügt man zwischen Nr. 5 und 6 (s. S. 129) eine Differenzierung in schwacher Essigsäure (20 ccm Wasser versetzt mit fünf Tropfen Eisessig) ein, worin die Schnitte solange bleiben, bis der Ton derselben von einem braunen zu einem dunkel gelblichen geworden ist. Die Schnitte kommen dann direkt in die Formollösung.

Eine neuere Modifikation Bielschowskys besteht darin, dass er nach Formolhärtung Gefrierschnitte nach Auswaschen für 24—48 Stunden in Pyridin überträgt, dann erst nach sorgfältigem Auswaschen in die erste Silberlösung einlegt etc.

Man kann auch nach Bielschowsky Pyridin anwenden und in Paraffin einschliessen und verfährt dann folgendermaßen:

1. Fixieren in Formol, Wässern.
2. Einlegen in Pyridin 3—4 Tage.
3. Wässern.
4. Einlegen in 3%ige Silbernitratlösung 3—5 Tage.
5. Kurzes Wässern.
6. Einlegen in das zweite Silberbad (s. Seite 129), das aber mit Wasser auf 86 ccm verdünnt wird, 24 Stunden.
7. Wässern.
8. Reduzieren in Formol.
9. Entwässern in steigendem Alkohol, Einbetten in Paraffin, Schneiden.
10. Entwässern der Schnitte in absolutem Alkohol.

11. Xylol. Balsam.

Doch ist die Imprägnierung an Gefrierschnitten sicherer.

Schulz empfiehlt in den einzelnen Flüssigkeiten viel länger liegen zu lassen, doch ist dies kaum nötig.

2. Darstellung der Achsenzylinder und Neurofibrillen nach Ramòn y Cajal.

1. Kleine frische Stückchen werden etwa 4—5 Tage bei 35° in eine $1^1/_2$—6%ige Lösung von Argentum nitricum im Dunkeln eingelegt.

2. Abspülen in destilliertem Wasser 1—2 Minuten.

3. Reduktion in:

Pyrogalol 1 gr,
Aqua dest. 100 ccm,
käufliches (40%iges) Formol 5—10 ccm

24 Stunden.

4. Abspülen in destilliertem Wasser 1—2 Minuten.

5. Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin oder Paraffin, Schneiden.

Die obersten Schnitte sollen nicht benutzt werden, ebensowenig die untersten, sondern nur die mittlere Lage.

Am besten bringt man die Schnitte noch (nach von Tellyesniczky)

6. in eine Goldchloridlösung, d. h. in 150 ccm Wasser mit etwa 4 ccm einer 1%igen Goldchloridlösung versetzt, etwa eine halbe Stunde.

Die Schnitte werden stahlgrau.

7. Übertragen der Schnitte in 5%ige Fixiernatronlösung 5 Minuten.

8. Gründliches Auswaschen in fliessendem Wasser.

9. Entwässern in absolutem Alkohol.

10. Xylol. Balsam.

Achsenzylinder und Fibrillen sind intensiv schwarz gefärbt.

Dass nicht die Schnitte vom ganzen Stück verwendet werden können, ist naturgemäß ein Nachteil.

Ramòn y Cajal empfiehlt im allgemeinen als Silberlösung eine 3%ige 4—6 Tage einwirken zu lassen, für das Rückenmark und die Medulla oblongata aber eine 6%ige 2—3 Tage zu verwenden.

Des weiteren stammen von Ramòn y Cajal noch eine Reihe anderer Methoden, von welchen folgende 3 noch erwähnt werden sollen:

1. Methode für myelinhaltige Fasern.

1. Kleine Stückchen in 96%igem Alkohol 24 Stunden härten.
2. Waschen in destilliertem Wasser.
3. Einlegen der Stücke bei 35° 3—5 Tage in eine 1—$1^1/_2$%ige Silbernitratlösung.
4. Waschen in destilliertem Wasser.
5. Reduzieren 24 Stunden in folgender Lösung:

Hydrochinon oder Pyrogallol 1—2 gr.
Natriumsulphit 0,2—0,5 gr,
Aqua dest. 100 ccm,
40%iges Formol 5 ccm.

6. Ganz kurzes Waschen in destilliertem Wasser.
7. Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten, Schneiden.
8. Entwässern der Schnitte in absolutem oder 96%igem Alkohol.
9. Karbolxylol. Xylol. Balsam.

Achsenzylinder rotbraun.

2. Methode für myelinfreie Achsenzylinder und Neurofibrillen.

1. Härten kleiner Stückchen 24 Stunden bis 3 Tage in:
   96%iger Alkohol 100 ccm,
   Ammoniak 0,5—1 ccm.
2. Auswaschen in mehrfach zu wechselndem destilliertem Wasser.
3. Einlegen bei 35° 3—5 Tage in:
   1—1½%ige Silbernitratlösung.
4. Reduzieren in:
   Formol 5 ccm,
   Pyrogallol 2 gr,
   destilliertes Wasser 100 ccm

24 Stunden.

5. Kurzes Abwaschen in destilliertem Wasser.
6. Entwässern. Xylol. Balsam.

Achsenzylinder und Neurofibrillen rötlich.

Will man die Achsenzylinder schwarz färben, so kann man bei beiden Methoden noch eine Vergoldung (s. oben) anschliessen.

3. Für die Endstrukturen der Nervenfibrillen.

1. Härten kleiner Stücke 24—48 Stunden in:
   40%iges Formol 25 ccm,
   Wasser 100 ccm,
   Ammoniak 0,25—1 ccm.
2. Mehrstündiges Wässern in fliessendem Wasser.
3. Einlegen der Stücke bei 35° 3 Tage in 1—3%ige Silbernitratlösung.
4. Ganz kurzes Abspülen in destilliertem Wasser.
5. Reduzieren in der bei der letzten Methode angegebenen Formol-Pyrogallollösung und Weiterbehandeln wie bei der letzten Methode.

Die Endfibrillen sind grau-schwarz gefärbt, Nervenzellen gelb.

Die zweite dieser Methoden, welche sich auch durch Einfachheit auszeichnet, ist besonders empfehlenswert.

Eine Silberlösung mit Zusatz von Argentamin verwendet Kató, diese Modifikation soll sehr schnell und sicher (für Gehirn) sein.

Des weiteren viel verwandt (besonders in Italien) wird die

4. Methode von Donaggio.

1. Fixieren kleiner Stücke in Pyridin 5—6 Tage.
2. Auswaschen 24 Stunden.
3. Einlegen in folgende Lösung 24 Stunden:
   Ammoniummolybdat 4 gr,
   Wasser 100 ccm,
   Salzsäure 4 Tropfen.
4. Kurzes Abspülen in Wasser, Alkohol, Einbetten, Schneiden, Aufkleben, Entparaffinieren, Alkohol, Aqua destill.
5. Färben in Thioninlösung 1:10,000 bis die Kerne, die sich anfangs färben, wieder entfärbt sind (mikroskopische Kontrolle).
6. Waschen, eventl. noch einmal in Ammoniummolybdat.
7. Entwässern in absolutem Alkohol.
8. Xylol. Balsam.

Die Molybdänverfahren von Joris und Lugaro, sowie die Silberimprägnation nach Simarro können hier nur erwähnt werden.

Dass auch die Goldimprägnation zur Achsenzylinderdarstellung verwendet wurde, aber in der Pathologie kaum Bedeutung hat, wurde bereits Seite 99 erwähnt. Methoden, welche angegeben wurden und noch am häufigsten gebraucht werden, stammen vor allem von Freud und Rubaschkin.

Noch zu erwähnen ist auch die

Goldmethode von Apathy für Neurofibrillen.

Hierbei wird in Sublimat gehärtet, eingebettet, in 1%iger Goldchloridlösung imprägniert und in 1%iger Ameisensäure bei kräftigem Licht reduziert.

Die Fibrillen erscheinen dann blauschwarz auf hellem Grund. Die Methode, welche sehr wechselnd ist, bezieht sich vor allem auf niedere Tiere und spielt in der Pathologie kaum eine Rolle.

Hier wird auch die

Bethesche Fibrillenmethode

nur selten angewandt. Bei ihr wird in Molybdänsäure gebeizt und dann mit basischen Farben (Toluidinblau) gefärbt. Der Lack haftet an den Neurofibrillen; dass sich andere Strukturen nicht mitfärben, wird durch Behandlung erst in Alkalien, dann in Salzsäure verhindert. Nur die Fibrillen und Kerne färben sich. Auch die

Methode von Ford-Robertson

kann nur kurz angedeutet werden, da sie keine weitere Verbreitung gefunden hat. Hier wird in ammoniakhaltiger Silbernitratlösung gehärtet und nach Einlegen in ammoniakhaltiges Wasser und ammoniakhaltige Dextrinlösung auf dem Gefriermikrotom geschnitten, die Schnitte auch in ammoniakhaltigem Wasser aufgefangen, sodann in zitronensäurehaltiges Wasser übertragen und nach Wässerung in Goldchlorid oder Platin getönt.

IV. Methoden zur gleichzeitigen Darstellung mehrerer nervöser Strukturelemente.

Hier kommen a) die Golgi-Methode und ihre Modifikationen, b) die Ehrlichsche intravitale Methylenblau-Methode in Betracht.

a) Golgi-Methode.

Das Prinzip der Methode besteht darin, dass kleine Stückchen Gewebe mit Kalium bichromicum behandelt und dann in ein Silber- oder Quecksilberbad übertragen werden.

Es bildet sich so ein Niederschlag von Chromsilber oder Chromquecksilber und zwar haften diese Niederschläge an den Ganglienzellen und ihren Ausläufern, an den Gliazellen, Achsenzylindern und Markscheiden, auch im Zwischengewebe etc.

In anderen Organen als im Zentralnervensystem färben sich auch Nervenfasern und Nervenendigungen, des weiteren epitheliale Zellgrenzen und sekretorische Kapillaren, z. B. in der Leber die Gallenkapillaren mit der Methode. Da sie jedoch sehr launisch ist, sehr vieles gleichzeitig und doch meist nicht alles vollkommen färbt, da die Deutung der Bilder infolgedessen sehr schwierig ist und häufige Niederschläge schwer zu vermeiden sind, wird diese in der normalen Histologie so sehr bedeutsame Methode in der pathologischen Histologie nur selten verwandt.

1. Die sogenannte langsame Silbermethode Golgis.

1. Kleine Stückchen werden in Müllerscher Flüssigkeit in einem braunen Gefäss 3 Monate in der Kälte, oder 1 Monat in der Wärme, oder in einfacher Kaliumbichromatlösung fixiert. Man fängt bei Verwendung letzterer mit 2 %iger an und steigt jede Woche bis zu 5 %iger. Hier brauchen die Stücke nur weit weniger kurz zu verweilen. Auch Erlitzkysche Flüssigkeit oder ein Gemisch von Erlitzkyscher und Müllerscher Flüssigkeit ist verwendbar.

2. Ganz kurzes Waschen in destilliertem Wasser.

3. Einlegen 1 bis 2 Tage in $^1/_2$—1 %ige Silbernitratlösung unter Wechseln der Lösung, sobald sie gelb wird.

4. Herstellen von Gefriermikrotomschnitten oder Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten, Schneiden (bei Celloidineinbettung sehr schnell vorgehen).

5. Schnitte in Alkohol gut auswaschen, um den Silbernitratüberschuss zu entfernen.

6. Entwässern in 96 %igem Alkohol.

7. Aufhellen einige Minuten in Kreosot oder 10 Minuten in Terpentinöl.

8. Einlegen in Damarharz oder Balsam, welchen man am besten ohne Bedeckung mit einem Deckglas an der Luft staubgeschützt eintrocknen lässt.

2. Golgis Schnellmethode.

1. Härten kleiner Stücke in:

25 %ige Kaliumbichromicumlösung 8 Teile,
1 %ige Osmiumsäurelösung 2 Teile.

2—8 Tage im Dunkeln.

Vom 2. bis zum 12. Tage entnimmt man Stückchen und untersucht sie.

Die weitere Darstellung so, wie in Methode 1. angegeben, bis die Methode gelingt.

3. Golgis kombinierte Methode.

1. Härten in Müllerscher Flüssigkeit 3—4 Tage.

2. Übertragen in das Kaliumbichromicum-Osmiumsäuregemisch (s. Methode 2) 2—3 Tage, sodann geht man wie bei der zweiten Methode beschrieben vor, indem man vom 2.—12. Tage jeden Tag mit einem neuen Stückchen den Versuch macht, ob die Methode jetzt gelingt.

In der Regel müssen die Stücke zur Darstellung der Gliazellen in der 2. Lösung 2—4 Tage, zur Darstellung der Nervenzellen 3—5 Tage, und der Nervenfasern 6—9 Tage verweilen.

4. Golgis Sublimatmethode.

Hier können auch etwas grössere Stücke verwendet werden.

1. Härten in Müllerscher Flüssigkeit 3—4 Wochen.

2. Übertragen in $^1/_4$—1 %ige wässerige Sublimatlösung 1 Woche bis 1—2 Monate. Man muss am ersten Tag die Lösung wechseln und ferner so bald wie sie gelb wird.

3. Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten, Schneiden.

4. Auswaschen der Schnitte in destilliertem Wasser.

5. Einlegen der Schnitte in folgende (in der Photographie wohlbekannte) Lösung 1—2 Minuten:

a) Natrium hyposulphuricum 175 gr,
Alaun 20 gr,
Ammonium sulphocyanid 10 gr,
Kochsalz 40 gr.
Wasser 1000 ccm.

8 Tage stehen lassen, dann filtrieren.

b) Goldchlorid 1 gr,
Wasser 100 ccm.

60 Teile von a) werden mit 7 Teilen von b) gemischt.

Die Schnitte werden hierin schwarz.

6. Gründliches Wässern.
7. Gegenfärben mit Karmin.
8. Wässern.
9. Entwässern in absolutem Alkohol; Xylol. Balsam.

Von den zahlreichen Modifikationen seien z. B. diejenigen von Kopsch, Sehrwald, Shaw-Bolton, sowie Ramòn y Cajal erwähnt. Ramòn y Cajal legt die Stücke nach der Versilberung, besonders wenn zunächst kein gutes Resultat eintritt, wieder in die Kalium bichromicum-Osmiumsäurelösung zurück und dann wieder in die Silberlösung und so 2—3 Mal.

Von Wichtigkeit ist noch

5. das Coxsche Verfahren,

welches das sicherste sein soll, und auch das Einlegen grösserer Stücke zulässt.

1. Fixieren in:

A. 5 %ige Kaliumbichromicum-Lösung 10 Teile.
5 %ige Sublimatlösung 10 Teile.

B. 5 %ige Kaliumchromicum-Lösung 8 Teile,
Wasser 15—20 Teile.

A und B mischen, im Brütofen erwärmen und so oder zur Hälfte mit Wasser verdünnt benutzen. Die Stücke bleiben hierin 1—2 Monate im Brütofen. Am 2. und 3. Tag ist die Flüssigkeit zu wechseln.

2. Schneiden der Stücke mit dem Rasiermesser oder nach Einlegen in 20 %ige neutrale Dextrinlösung für 1—3 Tage in dieser auf dem Gefriermikrotom.

3. Einlegen der (dicken) Schnitte in 5 %ige Natriumkarbonat oder in Ammoniaklösung. Die Schnitte werden schwarz.

4. Gründliches Wässern.

5. Entwässern in absol. Alkohol.

6. Xylol. Balsam ohne Deckgläschen.

Auch versuchen einige Modifikationen die Golgi-Präparate haltbarer zu machen, hier seien diejenigen von Callins und Ford-Robertson erwähnt.

6. Kronthalsche Methode der Imprägnation mit Bleisulphid.

1. Härten in folgender Flüssigkeit 5 Tage:

Zu einer gesättigten Lösung von Bleiazetat wird Tropfen für Tropfen Ameisensäure zugesetzt, bis das Gefäss von den feinen weissen Kristallen des ameisensauren Bleies angefüllt ist. Man löst in soviel Wasser, als zur Herstellung einer gesättigten Lösung nötig ist.

Diese Lösung wird zu gleichen Teilen mit 10 %igem Formol gemischt.

2. Die Schnitte kommen direkt in ein Gemisch zu gleichen Teilen von 10 %igem Formol und Schwefelwasserstoffwasser 3—5 Tage, die Mischung wird sofort erneuert.

3. Nachhärten in steigendem Alkohol, Celloidin-Einbettung. Schneiden.

4. Entwässern der Schnitte in 96 %igem Alkohol, Karbolxylol. Xylol. Balsam.

Nervenstrukturen und Neuroglia schwarz dargestellt.

Man kann auch die Methode nach Vorhärtung in Formol (Corning) verwenden.

b) Vitale Methylenblaumethode (Ehrlich 1886).

Dass man gewisse Gewebsbestandteile vital oder supravital darstellen kann, wenn man Lösungen, z. B. von Methylenblau, in das Gefässsystem eines Tieres kurz vor dem Tod injiziert, oder die Substanz sonst einbringt, oder frisch entnommene Organe in der Wärme einige Stunden in die Lösungen einlegt, wurde bereits auf Seite 21 besprochen.

Man verwendet gewöhnlich eine $^1/_4$—1 %ige Lösung des Farbstoffes in physiologischer Kochsalzlösung. Das Methylenblau wird sofort nach dem Tode von den Geweben selbst in das farblose Leukoprodukt verwandelt, und dieses wandelt sich unter dem Einfluss der Luft wieder durch Oxydation in die blaue Originalfarbe um. Zupfpräparate zeigen, ob dieser Prozess vollendet ist.

Auch in siedendem Wasser gelöstes Alizarin wird für manche Tiere empfohlen (Fischel).

Um nun zu fixieren und dünne Schnitte herzustellen, wurde eine grosse Reihe von Verfahren vorgeschlagen.

Dogiel verwendete zunächst Ammonium picricum, welches zwar gut fixiert, aber nicht gut härtet. Beide Eigenschaften vereint indessen das 1895 von Bethe eingeführte Ammonium molybdaenicum, welches zur Bildung von molybdänsaurem Methylenblau führt.

Wasserstoffsuperoxyd wird zugesetzt, um die Leukobase zu oxydieren und des weiteren Salzsäure.

Zur Härtung kann man Chromlösungen, welche das Salz nicht verändern, oder Osmiumsäurelösung verwenden, welche das molybdänsaure Methylenblau dunkler schwarz färbt, und nach Alkohol-Behandlung eine unlösliche Verbindung bildet.

Von diesen zahlreichen Methoden ist eine spätere von Bethe, welche zugleich eine Kombination mit dem Dogielschen Verfahren darstellt, am empfehlenswertesten.

Das Gewebsstück kommt zunächst in eine gesättigte wässerige Lösung von pikrinsaurem Ammonium 10—15 Minuten (das Blau wandelt sich in eine mehr violette Farbe um) und wird sodann direkt in eine der von Bethe angegebenen 6 verschiedenen Formen von molybdänsauren Ammoniumlösungen übertragen.

Wir geben von ihnen 2 an, nämlich die Nr. 3 und 6, welche, wenn noch Einbettung erwünscht ist, am geeignetsten sind.

1. Molybdänsaures Ammonium 1 gr,
   $^1/_2$ %ige Osmiumsäurelösung 10 ccm,
   Aqua dest. 10 ccm,
   offizinelle Salzsäure 1 Tropfen,
   Wasserstoffsuperoxyd 1 ccm.
2. Phosphormolybdänsaures Natrium 1 gr,
   $^1/_2$ %ige Osmiumsäurelösung 10 ccm,
   Aqua dest. 10 ccm,
   offizinelle Salzsäure 1 Tropfen,
   Wasserstoffsuperoxyd 1 ccm.

Zur Herstellung der Lösungen wird zunächst das Ammoniummolybdat oder das phosphormolybdänsaure Natrium unter Erhitzen, bis die Trübung verschwindet, im Wasser gelöst. Bei Zusatz von Salzsäure entsteht zwar ein Niederschlag, er löst sich aber beim Schütteln wieder.

Die Stücke bleiben hierin 4—12 Stunden, werden dann gut ausgewaschen, in absolutem Alkohol (nicht zu lange) entwässert und eingebettet.

Schnitte kann man mit Alaunkarmin gegenfärben, in absolutem Alkohol entwässern, in Xylol aufhellen und in Balsam einschliessen.

Ramòn y Cajal fixiert in den Betheschen Gemischen unter Weglassen des Wasserstoffsuperoxyds, wäscht sodann in Wasser aus und legt die Stücke in folgende Mischung:

Wasser 60 ccm,
käufliches Formol 40 ccm,
1 %ige Platinchloridlösung 5 ccm.

Die Stücke werden sodann wieder gewaschen, in absolutem Alkohol, welcher $^1/_3$ % Platinchlorid enthält, entwässert und in Paraffin eingebettet.

Auch die Schnitte werden in einem absoluten Alkohol entwässert, welcher $^1/_3$ % Platinchlorid enthält.

Michailow fixiert Methylenblaufärbungen in:

Ammoniummolybdat 8 gr,
40 %iges Formol 0,5 ccm,
Aqua dest. 100 ccm.

Speziell im Nervensystem färben sich mit der vitalen Methylenblaumethode die Ganglienzellen und ihre Ausläufer bis zu den feinsten hin, während die Glia ungefärbt bleibt.

V. Methoden zur Darstellung degenerierter Nerven.

Stellen die Markscheidenfärbungen insofern, als degenerierte Markscheiden sich nicht mitfärben, schon einen Gradmesser des Ausfalles dar, aber gewissermaßen im Negativ, so kann man auch positiv die Degenerationsprodukte nachweisen, indem letztere Fett darstellen und sich wie dieses färben lassen.

Kleine Degenerationsherde lassen sich naturgemäß nicht mit der ersten Methode, sondern nur mit dieser zweiten, positiven, nachweisen. Dies ist jedoch natürlich nur bei solchen Prozessen der Fall, bei welchen noch die Degenerationsprodukte selbst vorhanden sind, also im wesentlichen bei frischen oder event. auch bei fortschreitenden Prozessen. Wenn hingegen ein älteres Stadium des Markscheidenausfalles vorliegt, wobei keine neuen Markscheiden mehr zerstört werden und auch kein Fett mehr auftreten kann, versagt naturgemäß die Methode, jetzt lässt nur der Markscheidenausfall bei Markscheidenfärbungen Rückschlüsse auf Degenerationsherde zu, oder aber es ist bereits eine Ersatzwucherung für die zerstörten Nervengewebe eingetreten und zwar von Seiten der Glia oder des Bindegewebes, sodass Färbungen auf diese indiziert sind.

Unter frischen Prozessen, bei welchen sich die Zerfallsprodukte finden, kann man in der Regel solche vom 10. Tag bis zum 3. Monat verstehen.

Experimentell haben Halliburton und Mott nach Durchschneidung von Nerven die Fettsubstanzen als Degenerationsprodukte vom 4. Tag bis zum 44. Tag mit einem Höhepunkt vom 10.—13. Tag feststellen können. (Lange empfiehlt die Marchische Fettmethode nur für Schädigungen, die nicht älter als 14 Tage sind.)

Es ist nun aber oft sehr schwer, sofort z. B. bei der Sektion zu vermuten, ob es sich um frische oder alte Degenerationen handelt, oft kann man dies auch erst dadurch feststellen, dass man die verschiedensten Färbungen und Methoden anwendet.

Es ist infolgedessen gerade für diesen Fall angezeigt, das Material so zu härten, dass es zum Nachweis der verschiedenen hier event. benötigten Methoden geeignet ist.

Hier ist ganz besonders das Formol zu empfehlen, welches einerseits die gleich zu erwähnende Marchische Methode, andererseits auch diejenige auf Markscheiden und auf Glia gestattet.

Die beherrschende Methode bei frischen Markscheidenzerstörungen ist die

Marchi-(Algeri)sche Methode.

Ihr Prinzip besteht darin, dass nur das aus den zerfallenen Markscheiden entstandene Fett dargestellt werden soll. Da nun auch die Markscheidensubstanz selbst, welche ja auch aus fettähnlichen Körpern, in der Regel „Myelin" genannt, besteht, Fettreaktion, insbesondere die Reduzierung mit der Osmiumsäure gibt, so kommt es darauf an, mittels Beizung mit Chromsalzen dem Myelin diese Eigenschaft zu nehmen, während das Fett dieselbe behält.

Man beizt daher zunächst in Müllerscher Flüssigkeit und legt sodann in ein Gemisch dieser mit Osmiumsäure ein.

Die Markscheidensubstanz verbindet sich dabei derart mit dem Kaliumbichromat, dass sie sich nicht schwarz färbt, während dies das Fett allein dann noch tut.

So werden normale und degenerierte Markscheiden unterschieden.

Es muss noch darauf hingewiesen werden, dass kleine Mengen Fett keinen pathologischen Markscheidenzerfall anzuzeigen brauchen. Nach den Untersuchungen von Tiling, S. Mayer, Löwit u. a. kommen sie, z. B. im Rückenmark, auch physiologisch vor; sie stellen dann wie in anderen Organen (s. unter Fett) auch hier ein Stoffwechselprodukt dar.

Des weiteren muss darauf geachtet werden, dass die Nervensubstanz ohne mechanische Beschädigungen aus dem Rückenmarkskanal, Schädel etc. entnommen wird. Sonst -- und ebenso bei starker Fäulnis -- findet sich auch ein Markscheidenzerfall in Form von Fett, welcher aber künstlich herbeigeführt worden ist.

Auch soll zu lange Konservierung in Formol oder in Müllerscher Flüssigkeit eine Schwarzfärbung vortäuschen.

Des weiteren sind Fettpartikel nicht mit etwaigen schwarzen Osmiumsäureniederschlägen zu verwechseln.

Man hüte sich also vor alle dem.

Andererseits kann auch ein Fehlen der Fettfärbung, obwohl frisch zerfallene Markscheiden vorliegen, vorgetäuscht werden, einmal wenn zu grosse Stücke eingelegt wurden, und die Osmiumsäure daher nicht in die Tiefe dringen konnte, andererseits wenn die Stücke zu lange in Alkohol oder Celloidin bleiben und die osmierten Substanzen wieder aufgelöst werden. Man soll daher auch die fertigen in Celloidin eingebetteten Blöcke nicht zu lange in Alkohol aufbewahren, sondern gleich schneiden.

Man muss auf diese Punkte achten, um vor Täuschungen bewahrt zu bleiben.

Über die chemischen Vorgänge bei der Marchi-Färbung, vergl. Mann.

Nach Halliburton und Mott kann man periphere Nerven direkt in das Marchische Gemisch (Müllersche Flüssigkeit und Osmiumsäure) einlegen. Beim Zentralnervensystem versagt aber dann die Methode.

Die Ausführung der Marchischen Methode ist folgende:

1. Härten kleiner Stücke in Müllerscher Flüssigkeit 8 Tage bis 6 Wochen, oder im Orthschen Gemisch, oder erst in Formol und dann in Müllerscher Flüssigkeit.

2. Einlegen der Stücke in die frisch bereitete Marchische Mischung:

Müllersche Flüssigkeit 20 Teile,

1%ige wässerige Osmiumsäurelösung 10 Teile.

Hierin bleiben die Stücke 4 Tage bis etwa 4 Wochen bei 37°.

Das Gehirn braucht längere Zeit als das Rückenmark.

Sobald die Mischung nicht mehr nach Osmiumsäure riecht, ist sie zu wechseln.

3. 24 stündiges Auswaschen in fliessendem Wasser.

4. Schnelles Nachhärten und Entwässern in steigendem Alkohol; statt des absoluten Alkohols ist besser Aceton zu verwenden.

5. Einbetten am besten in Celloidin, ebenfalls schnell. Schneiden, ohne die Blöcke lange in 70%igem Alkohol aufbewahrt zu haben.

6. Entwässern des Schnittes in absolutem Alkohol.

7. Aufhellen in Xylol, Balsam.

Degenerierte Nervensubstanz (Fett) ist schwarz gefärbt, alles andere braun-grau

Man kann auch zwischen 5 und 6 eine Färbung der Kerne in Lithionkarmin oder die van Giesonmethode etc. einschalten.

Von den zahlreichen Modifikationen der Methode sei erwähnt, dass Schaffer, um auch die frühesten Zerfallsprodukte darzustellen, Zentralnervensystemstücke sehr lange, z. B. 1/2 Jahr, in Müllerscher Flüssigkeit liegen lässt, dann in das Marchische Gemisch überträgt. 8—14 Tage wässert und dann wie oben weiter behandelt.

Teljatnik legt kleine Stücke zuerst in Müllersche Flüssigkeit, dann in steigende Stärken von Osmiumsäure.

Die Schnitte werden nach Celloidineinbettung nach der Palschen Methode (s. unter Markscheiden) gebleicht.

Diese Methode soll sicherer sein, und etwa mit der Osmiumsäure geschwärzte Stellen, welche kein Fett sind, sollen dabei wieder gebleicht werden.

Man kann, um ein schnelleres Eindringen der Osmiumsäurelösung zu bewirken, der Marchischen Flüssigkeit Natriumjodat zusetzen.

Busch empfiehlt eine 6—7 tägige Anwendung folgender Mischung:

Osmiumsäure 1 gr,
Natriumjodat 3 gr,
Wasser 300 ccm.

Auch ein Gemisch von:

2 %ige Osmiumsäure 80 ccm,
1 %ige Essigsäure 20 ccm

wird zum gleichen Zweck von Orr empfohlen. Man braucht hiermit die Stücke nur 2 Tage zu behandeln, wechselt die Flüssigkeit, wenn sie dunkel wird und härtet ohne Wässerung in steigendem Alkohol nach.

Langley und Anderson härten in 2%iger Kaliumbichromatlösung, schneiden nach Einlegen in eine gummihaltige ebensolche Lösung in ihr auf dem Gefriermikrotom, entziehen dem Schnitt den Gummi durch Einlegen in eine 2%ige Kaliumbichromatlösung, färben dann den Schnitt in einem Gemisch zu gleichen Teilen von 2%iger Kaliumbichromatlösung und 2%iger Osmiumsäure 1—3 Wochen, entwässern ihn etc.

Die Methode von Schaffer, welche die Weigertsche Markscheidenmethode mit der Marchischen Methode verbindet, ist deswegen nicht empfehlenswert, weil sowohl Markscheiden wie degenerierte Fasern dunkelblau, resp. schwarz, also sehr ähnlich, dargestellt werden.

Des weiteren kommen zur Darstellung des aus zerfallenen Markscheiden entstehenden Fettes die Methoden der Fettfärbung mit Scharlach R (Sudan III) in Betracht.

Man schneidet Stücke des Nervensystems auf dem Gefriermikrotom nach Formolhärtung und behandelt sie ganz nach der Seite 149 angegebenen Fettmethode.

Das Markscheidengewebe ist diffus hellgelb-orange gefärbt. Das Fett der zerfallenen Markscheiden hebt sich durch seine dunkelrote Färbung gut ab.

Oder man benutzt folgende

Bendasche Methode:

1. Härten in Formol, Schneiden auf dem Gefriermikrotom.
2. Darstellung der Markscheiden nach Weigert.
3. Färben mit Scharlach R.

Dann sind die Markscheiden blauschwarz, das Fett ist rot dargestellt.

Diese Fettfärbungen in Scharlach R dienen nur zur schnellen Orientierung.

Für ganz frische Degenerationen ist von Wichtigkeit die

Donaggiosche Methode

bezw. eine seiner drei Methoden, von denen 2 hier erwähnt seien.

a) 1. Härten in Müllerscher Flüssigkeit oder 4%iger Kaliumbichromicumlösung. Die Stücke können hierin beliebig lange bleiben.

2. Direktes Übertragen in steigenden Alkohol, Einbetten in Celloidin, Schneiden, (20—30 μ).

Einlegen der Schnitte in destilliertes Wasser.

3. Übertragen für 10—20 Minuten in folgende Mischung:

20 %ige ammoniakalische Lösung von Zinnchlorid und

1 %ige wässerige Lösung von Hämatoxylin

werden zu gleichen Teilen gemischt. Die Lösung ist nach 5 Tagen gebrauchsfähig und soll im Dunkeln und kühl aufbewahrt werden.

4. Kurzes Abspülen in destilliertem Wasser.

5. Differenzieren nach Pal (s. Markscheidenmethode) bis die normalen Markscheiden ganz entfärbt sind.

6. Entwässern in absolutem Alkohol.

7. Xylol, neutraler Balsam.

Die degenerierten Fasern sind blau, normale farblos.

b) Nr. 1 und 2 wie oben.

3. Einlegen der Schnitte in $^1/_2$—1 %ige wässerige Hämatoxylinlösung 10—20 Minuten.

4. Übertragen in eine gesättigte wässerige Lösung von neutralem Kupferazetat 30 Minuten, die Lösung soll einmal gewechselt werden.

Nr. 5 etc., wie oben.

Die degenerierten Fasern sind schwarz, die normalen ungefärbt, ausser ganz am Rand des Schnittes.

Bei Markscheidenzerfall treten die sogenannten „Körnchenkugeln“ oder „Körnchenzellen“ auf.

Es sind dies Phagocyten, deren Ursprung verschieden beurteilt wird und vielleicht mannigfaltig ist, welche das Fett des zerfallenen Markes in sich aufnehmen.

Man kann sie oft schon am frischen Präparat durch Abblenden nachweisen oder mittels der Fettmethoden, sei es mit Scharlach R (Sudan III), sei es mit Osmiumsäure.

Eine besondere Methode ist angegeben von Busch und Rossolimo.

1. Härten in 5 %iger Formollösung 2 Tage, Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin, Schneiden.

2. Einlegen der Schnitte in 0,5 %ige wässerige Chromsäurelösung 3 Stunden.

3. Einlegen der Schnitte 3 Stunden in 1 %ige Osmiumsäurelösung oder in folgende Mischung:

0,1 %ige Osmiumsäurelösung 10 Teile,
96 %iger Alkohol 10 Teile,
Formol (40 %iges) 2 Teile.

4. Entwässern der Schnitte in absolutem Alkohol.

5. Xylol. Balsam.

Die Körnchenkugeln sind schwarz gefärbt.

Es ist bereits oben erwähnt, dass sich zur Darstellung alter Degenerationen die Marchische Methode oder die Fettmethoden nicht mehr eignen können, sondern dass man hier eine negative Darstellung (Markscheidenausfall) mit Weigerts Markscheidenmethode oder eine positive Darstellung dadurch erhält, dass man die Ersatzwucherung färberisch darstellt.

Es kommt hier einmal das Bindegewebe, andererseits Glia in Betracht.

Für erstere dienen die gleich zu erwähnenden speziellen Färbungen, für Bindegewebsfärbung die van Giesonmethode. Diese hat nun in Verbindung mit Weigerts Eisenhämatoxylin gerade für diese Fälle den besonderen Vorteil (s. Seite 113), Glia und Bindegewebe differentiell zu färben, erstere gelb, letzteres rot.

Man verwendet hier die van Giesonmethode als Nachfärbung sehr gut nach der Weigertschen Markscheidenfärbung, nur muss man dann stark gefärbte, wenig differenzierte Präparate verwenden (vergl. Seite 303), da sich sonst in der Pikrinsäure des van Giesongemisches die Markscheidenfärbung auszieht. Die Markscheiden werden dann blauschwarz, die Neuroglia ist gelb, das Bindegewebe rot dargestellt.

VI. Methoden zur Darstellung der Neuroglia.

Wir kennen bisher keine absolut sichere Methode, welche alle Gliafasern darstellte.

Bei weitem die beste ist die:

1. Methode Weigerts.

Man muss sich streng an die Vorschriften halten und frisches Material gebrauchen, aber dennoch ist die Methode oft nicht sicher. Dabei gelingt sie beim Menschen noch viel besser, als beim Tiere.

Weigert hat seine Methode immer weiter und weiter verbessert und modifiziert, besonders das Härtungsgemisch verändert, und er hat so ausserordentlich schöne und ziemlich sichere, sowie sehr gut haltbare Präparate verfertigt. Da aber auch diese Methode, vor allem weil sie noch nicht ganz sicher an kleinen Tieren gelang, Weigert selbst nicht vollständig befriedigte, arbeitete er bis zu seinem Tode an der Vervollkommnung der Methode, und er starb, ohne dass die Verbesserungen bekannt gegeben worden wären.

Es sei nebenbei bemerkt, dass sich mit der Weigertschen Gliamethode auch noch andere Gewebsbestandteile, so solche der quergestreiften Muskeln, cuticulare Bestandteile von Epithelien, Gallenkapillaren etc. darstellen lassen.

Bei der Weigertschen Methode kann man vier verschiedene Prozesse unterscheiden.

1. Fixierung. Hierzu dient das Formol, nach 24 Stunden müssen die Stücke durchfixiert sein, doch kann man auch Stücke länger in Formol liegen lassen.

2. Beizen in einer Fluorchrom-Essigsäure-Kupferbeize (Neurogliabeize). Nr. 1 und 2 werden am besten vereinigt vorgenommen.

3. Reduktion der Schnitte in hypermangansaurem Kalium und einer Chromogen-Ameisensäurelösung.

4. Färbung in Methylviolettlösung und Differenzierung.

Anwendung der Weigertschen Gliamethode.

1. Fixieren und Beizen frischer Stücke in folgender Lösung:

Fluorchrom 2,5 gr,
Wasser 100 ccm.

Durch Kochen lösen, dann die Flamme ausdrehen und Zusetzen von:

gewöhnliche Essigsäure 5 ccm,
neutrales essigsaures Kupfer (fein gepulvert) 5 Teile,
Formol (40%iges) 10 ccm.

In dieser Beizflüssigkeit bleiben die Stücke bei Zimmertemperatur 8 Tage oder 4—5 Tage im Brütofen, unter öfterem Wechseln der Flüssigkeit. (Man kann auch erst 1 Tag in Formol härten und dann die Stücke in obiger Flüssigkeit ohne Zusatz von Formol beizen. Die Beizungsflüssigkeit hält sich im Dunkeln gut.)

2. Abspülen in Wasser, Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin (Weigert) oder Paraffin (Benda), Schneiden event. Aufkleben der Schnitte und entparaffinieren.

3. Einlegen der Schnitte in $^1/_3$%ige wässerige Lösung von Kalium hypermanganicum 10 Minuten (Oxydation und eine Art Beizung).

4. Waschen in zweimal zu wechselndem Wasser.

5. Reduzieren in folgender Flüssigkeit 2—4 Stunden:

Chromogen (Höchst) 5 gr,
Ameisensäure (spez. Gewicht 1,2) 5 ccm,
Aqua dest. 100 ccm.

Man filtriert, entnimmt 90 ccm der Mischung und setzt ihr zum Gebrauch jedesmal 10 ccm einer 10%igen Natriumsulfitlösung zu. Die vorher braunen Schnitte werden in der Lösung sehr schnell entfärbt.

6. Waschen in zweimal zu wechselndem Wasser.

7. Einlegen der Schnitte in gut filtrierte 5%ige wässerige Chromogenlösung.

8. Waschen in Wasser.

9. Übertragen des Schnittes, wenn nicht schon geschehen, auf einen Objektträger (welcher mit Alkohol abgewaschen ist). Trocknen mit Filtrierpapier und Färben etwa 30 Sekunden in folgender Lösung:

Heissgesättigte Methylviolettlösung in 70 bis 80%igem Alkohol 100 ccm, 5%ige Oxalsäure 5 ccm.

10. Ablaufenlassen der Farblösung, Trocknen mit Filtrierpapier, Auftropfen folgender Jodlösung (s. auch unter Fibrinfärbung): Gesättigte Lösung von Jod in 5%iger wässeriger Jodkaliumlösung. Man lässt diese Jodlösung auf dem Schnitt etwa 30 Sekunden.

11. Abgiessen der Jodlösung, Trocknen mit Filtrierpapier, Differenzieren in Anilinöl und Xylol zu gleichen Teilen, solange bis keine starken Farbwolken mehr abgehen.

Am besten Kontrolle unter dem Mikroskop.

12. Trocknen mit Filtrierpapier, sorgfältiges Auswaschen in öfters zu wechselndem Xylol unter mehrmaligem Trocknen.

13. Einbetten in Kanadabalsam oder besser Kolophonium-Terpentinlack.

Die Neurogliafasern sind blau gefärbt, ebenso die Kerne, Bindegewebe ist violett, Ependym und Ganglienzellen, sowie dickere Achsenzylinder sind gelblich.

Man kann Nr. 7 (Chromogen) weglassen, dann ist das Bindegewebe gar nicht gefärbt, doch heben sich dann die Gliafasern, da weniger dunkelgefärbt, schlechter ab, sodass die Einfügung der Chromogenlösung anzuraten ist.

Wenn die Schnitte nach der Reduktion etc. nicht gleich gefärbt werden sollen, so hebt man sie nach Nr. 8 am besten in folgender Lösung auf:

80%iger Alkohol 90 ccm,
5%ige Oxalsäure 10 ccm.

Manchmal gelingt die Färbung dann sogar sicherer und schärfer.

Unter den zahlreichen Modifikationen der Weigertschen Gliamethode können nur folgende beschrieben werden:

2. Spielmeyersche Modifikation.

Auch er bettet in Paraffin ein, wobei er zur Entwässerung der Stücke Azeton und zwar nur 2 Stunden im Brütofen verwendet und überhaupt sehr schnell verfährt.

Er färbt $^1/_2$—1 Stunde im Brütofen in folgender Lösung:

Gesättigte wässerige Lösung von Methylviolett 100 ccm,
Alkohol abs. 10 ccm,
Karbolsäure 5 ccm.

Spielmeyer stellt sich zwei derartige Lösungen her, eine mit Methylviolett 5 B und eine mit Methylviolett B, welch letztere einen leicht rötlichen Farbton hat.

Er verwendet bei der Färbung der Schnitte die beiden Lösungen und zwar in der angegebenen Reihenfolge.

Dadurch soll das Glia-Protoplasma wenigstens an den grossen Spinnenzellen oft deutlicher hervortreten, und Jodkristalle sollen seltener zurückbleiben.

Zur Darstellung der Glia bei Tieren empfiehlt Spielmeyer die Schnitte nach dem Entparaffinieren zunächst in einer $2^1/_2$%igen Lösung von schwefelsaurem Eisen-Ammoniumoxyd zu beizen.

3. Bartelsche Modifikation.

Auch an längere Zeit nach dem Tode entnommenen Stücken soll die Methode Weigerts gelingen, wenn man folgendermaßen verfährt:

Die Stücke werden wie nach Weigert in Formol fixiert, in seiner Beize gebeizt, kommen dann noch sehr kurz in 96 %igen und absoluten Alkohol (Anilinöl vermeiden) und werden in Paraffin eingebettet.

Man verfährt dann bei der Reduktion, Färbung etc. wie nach Weigert, nur verlängert man die Dauer in den einzelnen Lösungen für die Schnitte, welche man mit dem Paraffin färbt. Und zwar braucht man für die $^1/_3$ %ige Kaliumhypermanganatlösung $^1/_2$—1 Stunde, für die Chromogen-Ameisensäurelösung 6—12 Stunden, für die Methylviolettlösung 12—24 Stunden und für die Jodlösung gegen eine halbe Stunde.

Auch wässert man dazwischen die Schnitte tüchtig.

Zum Schluss verfährt man so, dass man den Schnitt nach der Jodierung in Wasser abspült, das Wasser erwärmt, den Schnitt mit dem Deckgläschen auffängt, im Brütschrank durch einige Stunden langes Liegen antrocknen lässt, dann den so aufgeklebten Schnitt mit Anilinxylol differenziert, mit Xylol behandelt und in Balsam einschliesst.

4. Gâlesescusche Modifikation.

1. Härten 5 Stunden in 7 %iger Sublimatlösung.

2. Kleine Stückchen 48 Stunden bei 37° in Anglavesche Flüssigkeit einlegen.

Diese besteht aus:

Sublimat 15 Teile,
1 %ige wässerige Osmiumsäure 2 ccm,
1 %ige wässerige Chromsäure 25 ccm,
2 %ige Essigsäure 5 ccm,
Aq. dest. 68 ccm,
= Foxsche Flüssigkeit 45 Teile.

Die Flüssigkeit ist mehrfach zu wechseln.

3. Waschen in fliessendem Wasser 2 Stunden. Entwässern zuerst in jodhaltigem (Sublimatniederschläge) dann in reinem Azeton, Einbetten in Paraffin. Dünne Schnitte aufkleben.

4. Beizen 3 Stunden bei 50° in 2 %iger wässeriger Resorzinlösung.

5. Färben in:

Methylviolett 5 B 5 gr,
80 %iger Alkohol 125 ccm.

Die Flüssigkeit ist 12 Stunden auf dem Wasserbad zu erwärmen und nach dem Erkalten zu dekantieren. Zur Färbung werden 100 ccm dieser Flüssigkeit mit 5 ccm 5 %iger Oxalsäurelösung gemischt.

Man färbt hierin zunächst 10 Minuten kalt, dann bis zur Dampfbildung und wiederholt letzteres ungefähr 5—6 mal in 5 Minuten.

6. Differenzieren in Anilinöl-Xylol ana oder 1:2 etwa 5—10 Sekunden.

7. Xylol. Balsam.

Neurogliazellen hellblau, Kerne violett, Gliafasern violett in einer Farbnüance zwischen Kernen und Protoplasma. Grund grau.

5. Nisslsche Modifikation.

1. Härten in Formol, Einbetten in Celloidin (Alkohol nur kurz), Schnitte auf den Objektträger ankleben und gleichzeitig entcelloidinieren mittelst Methylalkohols.

2. Färben 12 Stunden in 1 %iger wässeriger Viktoriablaulösung.

3. Jodieren etc. nach Weigert.

Die Modifikationen der Weigertschen Gliamethode von Krause, Storch, Aguerre, Wimmer und Hoppe können nur erwähnt werden.

6. Bendasche Gliamethode.

a) Härtung.

1. Fixieren kleiner frischer Stückchen in 90—93 %igem Alkohol, 2 Tage oder länger (öfters wechseln, Stücke auf Watte legen).

2. Einlegen ganz kleiner Stücke in Salpetersäure (offizin. Salpetersäure 1 Teil, Wasser 10 Teile) 24 Stunden (evtl. die Salpetersäure einmal wechseln).

3. Beizen 24 Stunden in 2 %iger Lösung von Kalium bichromicum in Wasser.

4. Nachbeizen in 1 %iger wässeriger Chromsäurelösung 2 Tage.

5. Wässern 24 Stunden.

6. Entwässern in steigendem Alkohol, Einbetten in Paraffin, Schneiden, Aufkleben der Schnitte, Entparaffinieren in Xylol, absoluter Alkohol, Wasser.

b) Färbung.

Als solche gibt Benda mehrere Methoden an; wiedergegeben sei folgende:

7. Beizen der Schnitte 24 Stunden in 4 %iger Eisenalaunlösung oder in:
Liquor ferri sulphurici oxydati 1 Teil,
Aqua dest. 2 Teile.

8. Kurzes Abspülen in fliessendem Wasser.

9. 2 Stunden färben in destilliertem Wasser, dem so viele Tropfen einer konzentrierten Lösung von sulphalizarinsaurem Natrium (Kahlbaum) in 70 %igem Alkohol zugesetzt sind, bis eine bernsteingelbe Farbe resultiert.

10. Kurzes Abspülen in destilliertem Wasser, Trocknen mit Filtrierpapier.

11. Färben in $^1/_{10}$ %iger wässeriger Lösung von Toluidinblau unter Erwärmen bis Dämpfe aufsteigen, und, während die Lösung erkaltet, noch 15 Minuten stehen lassen.

12. Kurzes Abspülen in 1 %iger Essigsäure.

13. Abtrocknen mit Filtrierpapier, kurzes Eintauchen in absoluten Alkohol.

14. Differenzieren in Kreosot etwa 10 Minuten (kontrollieren unter dem Mikroskop).

15. Abtrocknen mit Filtrierpapier. Xylol. Balsam.

Glia blau, Kerne und Nisslsche Granula ebenso, Bindegewebe und Achsenzylinder braunrot dargestellt.

Diese Methode Bendas stellt auch Fibrin, Centrosomen, quergestreifte Muskelbestandteile und sekretorische Zellen dar.

Benda hat noch eine Reihe anderer Methoden, besonders Modifikationen der Färbung angegeben, so auch die Weigertsche Methylviolettlösung modifiziert.

7. Mallorysche Neurogliamethode.

1. Härten kleiner Stücke in 10 %igem Formol wenigstens 4 Tage im Brütofen.

2. Nachhärten in gesättigter, wässeriger Pikrinsäurelösung 4—8 Tage.

Man kann 1 und 2 kombinieren, indem man der gesättigten, wässerigen Pikrinsäurelösung auf 90 ccm 10 ccm 40 %iges Formol hinzufügt.

3. Übertragen der Stücke in 5 %ige wässerige Lösung von Ammoniumbichromat 4—7 Tage im Brütofen (wechseln der Lösung am zweiten Tag), oder 3—4 Wochen bei Zimmertemperatur.

4. Direktes Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin, Schneiden.

5. Einlegen der Schnitte zur Oxydation in $^1/_2$ %ige wässerige Lösung von hypermangansaurem Kalium 15—30 Minuten.

6. Abspülen in Wasser.

7. Reduzieren der Schnitte durch Einlegen in 1 %ige wässerige Lösung von Oxalsäure 15—30 Minuten.

8. Gründliches Auswaschen in mehrfach zu wechselndem Wasser.

9. Färben in folgender Mischung ein bis mehrere Tage:

Hämatoxylin 0,1 gr,
1 %ige Phosphorwolframsäure 2 ccm,
Wasserstoffsuperoxyd 0,2 ccm,
Wasser 80 ccm.

In der obigen Reihenfolge zusammensetzen die Lösung ist; haltbar.

10. Kurzes Wässern.

11. Differenzieren in frisch hergestellter 30 %iger alkoholischer Lösung von Ferrum sesquichlor. 5—25 Minuten.

12. Wässern.

13. Kurzes Entwässern in 96 %igem Alkohol.

14. Aufhellen in Origanumöl. Xylol. Balsam.

Die Neuroglia und Kerne (sowie Fibrin) sind dunkelblau, alles andere ist gelbgrau dargestellt. Lässt man Nr. 11 aus, so erscheinen zudem noch Bindegewebe dunkelrosa. Achsenzylinder und Nervenzellen hellrosa.

Man kann auch nach der Malloryschen Härtung, statt der von ihm angegebenen obigen Färbungsmethode, die Weigertsche Neuroglia- oder Fibrinmethode folgen lassen oder die Mallorysche Dreifarbenmethode anschliessen (s. Seite 133). Dann sind die Bindegewebsfasern blau, Neurogliafasern tiefrot, Achsenzylinder und Ganglienzellen heller rot gefärbt.

Die Methode Yamagivas, welche in Müllerscher Flüssigkeit gehärtete Stücke nach Celloidineinbettung in alkoholischer Eosinlösung und wässeriger Anilinblaulösung mit Differenzierung in alkalischem Alkohol anwendet, kann hier, da sie besondere Vorzüge nicht besitzt, nur erwähnt werden.

Ebenso die Methode Anglades, welcher in einem Gemisch von Osmiumsäure, Chromsäure, Essigsäure und Sublimat härtet, und die Schnitte ähnlich wie Weigert färbt, nur statt des Methylviolett Viktoriablau verwendet.

Auch die Methode von Merzbacher den mit Lauge behandelten Gefrierschnitt mit Viktoriablau (eventl. mit Zusatz von Fuchsinlösung) zu färben und nach Jodieren in Anilinöl-Xylol zu differenzieren sei nur erwähnt.

Eine eigene Methode zur Darstellung der sogenannten marginalen d. h. der der Pia und den Gefässen dicht benachbart gelegenen Glia ist von Held angegeben worden.

Er fixiert in einer modifizierten Zenkerschen Lösung in der Wärme, bettet in Celloidin ein, behandelt die Schnitte mit Natronlauge-Alkohol, beizt in Eisenalaun, färbt in einem Molybdän-Hämatoxylin und differenziert in Eisenalaunlösung. Eine Kontrastfärbung wird sodann mit van Giesongemisch vorgenommen, entwässert etc.

Die sogenannte Mesoglia wird nach Ford-Robertson bei Behandlung mit Platinbichlorid und Reduktion in Formol imprägniert. Man verfährt hierbei nach folgender

Methode von Ford-Robertson.

1. Härten kleiner Stückchen in 10%igem Formol.

2. Übertragen in reichliche Mengen folgender Flüssigkeit, in gut verschlossenen Gefässen im Brütofen.

Die Flüssigkeit stellt eine Mischung zu gleichen Teilen von

1%igem Platinbichlorid und

10—20%igem neutralisiertem Formol dar.

Die Lösung muss frisch bereitet und dann filtriert sein.

Man lässt hierin die Stücke 4—6 Wochen.

Wenn die gelbe Farbe der Lösung, d. h. das Platinbichlorid verschwunden ist, giesst man die Hälfte der Flüssigkeit ab und ersetzt sie durch ½%ige Platinbichloridlösung.

3. Gründliches Wässern.

4. Einlegen in wässerige Dextrinlösung (1:2) und Schneiden in ihr auf dem Gefriermikrotom.

5. Entwässern in Alkohol.

6. Xylol. Balsam.

Es sei noch erwähnt, dass sich bei der Bielschowsky-Methode (s. S. 128) zuweilen, aber allerdings unter nicht genauer bekannten Bedingungen die Achsenzylinder und Neurofibrillen nicht, dagegen die Glia prächtig schwarz imprägniert finden. Nach Perusini soll dies regelmäfsig eintreten, wenn man in der Weigertschen Gliabeize fixiert. Auch bei den Heidenhainschen Eisenhämatoxylinmethode färbt sich oft die Glia mit, die protoplasmatischen Anteile kann man dann mit Fuchsin oder Eosin gegenfärben.

Ausser der bis jetzt besprochenen faserigen Glia, haben nun auch die Gliazellen und ihr protoplasmatischer Anteil eine besondere Bedeutung, auch für pathologische Prozesse.

Die Neurogliazellen färben sich nach der Nisslschen Methode (s. oben) ausgezeichnet, auch bei Färbung mit Toluidinblau und Alkohol-Differenzierung, nur muss man in beiden Fällen nach den Vorschriften Nissls in Alkohol fixieren und das Stück ohne Einbettung aufkleben. Am besten ist auch hier das Aquivalentbild nach Nissls genauen Vorschriften.

Bei der Nisslschen Methode werden die Kerne der Gliazellen dunkelblau, das Protoplasma ganz leicht hellblau gefärbt.

Zur Darstellung der plasmatischen und retiknlären Glia neben der faserigen ist des weiteren eine auch von Spielmeyer empfohlene

Methode von Fieandt

— die aber bisher nur bei Tieren (Hunden) verwandt wurde — von Bedeutung; sie soll deshalb hier wiedergegeben werden:

1. Fixieren kleiner noch lebenswarmer Gewebsstücke (auf Watte gelegt) in reichlichen Mengen folgender (Heidenhainscher) Mischung 24 Stunden:

Sublimat 70 gr.
Kochsalz 6 gr,
Aqua dest. 1000 ccm.
Acidum trichloraceticum cryst. 20 gr.

2. Stücke mit Filtrierpapier abtupfen, Einlegen (ebenfalls auf Watte) in 96%igen Alkohol, der am ersten Tage 2 stündlich, dann 2 mal täglich zu wechseln ist, und worin die Stücke 5—7 Tage liegen bleiben, sodann Übertragen in absoluten Alkohol 2—3 Tage, Einbetten in Paraffin, wobei die Stücke zunächst in mit dünnflüssigem Cedernholzöl überschichteten Alkohol für 24 Stunden, dann in reines Cedernholzöl ebensolange, sodann ebensolange in Ligroin, dann auf einige Tage in eine gesättigte Lösung von Paraffin in Ligroin und endlich in Paraffin kommen. Schneiden.

Dünne Schnitte werden aufgeklebt, entparaffiniert, in absoluten Alkohol, dann in 96%igen Alkohol übertragen.

3. Behandeln der Schnitte 1 Stunde mit folgender Jodlösung:

96%iger Alkohol 10,0 ccm,
Jod. krist. 1,0 gr,

4. Übertragen der Schnitte in 96%igen Alkohol.

5. Übertragen derselben in 0,25%ige Lösung von Natrium-thiosulphat, bis die Schnitte völlig weiss sind.

6. 2—3 maliges Abspülen in destilliertem Wasser und vorsichtiges Trocknen der Schnitte mit Filtrierpapier.

7. Färben 12—24 Stunden in folgender, womöglich alter Lösung:

Hämatoxylin 0,5 gr,
10%ige wässerige Lösung von Phosphorwolframsäure 100 ccm,
Aqua dest. 400 ccm,
Wasserstoffsuperoxyd (Merck) 1 ccm.

8. Trocknen mit Filtrierpapier und Differenzieren in folgender frisch bereiteter Lösung:

Alkohol abs. 50,0 ccm,
Ferrum sesquichloratum sicc. pur. 5 gr.

Hierin Differenzieren 1 bis mehrere Stunden.
(Kontrolle unter dem Mikroskop.)

9. Sorgfältiges Trocknen mit Filtrierpapier.

10. 2 maliges, kurzes Waschen in destilliertem Wasser.
Die Schnitte erscheinen hellblau.

11. Einlegen in einmal zu wechselnden absoluten Alkohol 24 Stunden.

12. Aufhellen in Origanumöl, dann Xylol. Kanadabalsam.

Die Neurogliafasern und das Kernchromatin erscheinen dunkelblau, das Gliaprotoplasma hellblau bis graublau. Achsenzylinder und Bindegewebe sind grau bis gelblich, Kernkörperchen gelb, rote Blutkörperchen schmutzig gelbgrau tingiert.

Die Methode bringt das Gliareticulum ziemlich sicher zum Vorschein.

Zur Darstellung der amöboiden Gliazellen, ihrer Granula und Einschlüsse sind eine Reihe Methoden von Alzheimer angegeben worden, die besonders deswegen von Wichtigkeit sind, weil nach seinen Untersuchungen bei der Auflösung und dem Wegtragen abgebauten nervösen Gewebes amöboide Elemente der Glia eine Rolle spielen.

Die Alzheimerschen Methoden bedienen sich zum Teil der Gefrierschnitte und wenden nach der Beizung in Weigertscher Gliabeize eine Nachfärbung mit Mallory-schem Hämatoxylin oder Färbung mit Methylgrün-Eosin an, zum Teil wird nach Härtung in Formol und sodann in Flemmingscher Flüssigkeit in Paraffin eingebettet und mit Säurefuchsin und Lichtgrün gefärbt.

Ebenfalls von Alzheimer stammen des weiteren Methoden zur Darstellung von Granula in den Gliazellen, welche als regressive Metamorphosen derselben aufgefasst werden, wie ausser Fett die sogenannten protagonoiden und fibrinoiden Granula.

Auf alle diese Methoden kann hier nicht im Einzelnen eingegangen werden, vielmehr sei auf die spezielle Übersicht in der Spielmeyerschen „Technik der mikroskopischen Untersuchung des Nervensystems“ verwiesen.

VII. Peripheres Nervensystem.

Während hier im allgemeinen dieselben angegebenen Methoden zur Darstellung der Achsenzylinder (Bielschowsky Methode), Markscheiden (Weigertsche Methode), deren Degenerationen (Marchische Methode) etc. in Gebrauch sind, kommen gerade für die peripheren Nerven und ihre Endigungen ausser der schon besprochenen vitalen Methylenblaumethode die Goldimprägnationen in Betracht.

Diese letzteren sind besonders in Form der Kühneschen Modifikation, der schon besprochenen Löwitschen und Golgischen Methode (Reduktion in mit Ameisensäure versetztem Glyzerin-Wasser), sowie in Form der Methoden von May, Drasch, Ranvier und v. Frey in Anwendung. Diese seien hier noch kurz dargestellt.

1. Maysche Methode.

1. Einlegen des Gewebsstückes in 2%ige Essigsäure etwa 12 Stunden bis es vollständig angeschwollen ist.

2. Übertragen für 2—3 Stunden in folgende frisch präparierte Lösung:

1%ige wässerige Goldchloridlösung 1 Teil,
2%ige wässerige Osmiumsäurelösung 1 Teil,
2%ige Essigsäure 20 Teile.

3. Aufhellen mehrere Stunden in:

25%ige Salzsäure 1 Teil,
Wasser 20 Teile,
Glyzerin 40 Teile.

4. Untersuchen in dieser Elüssigkeit.

2. Draschsche Methode.

1. Liegenlassen des Materials 12—24 Stunden bei kühler Temperatur (4—6°). Auf diese Weise wird die Vorbehandlung mit Säuren vermieden und die Reduktion durch postmortal entstehende reduzierende Substanzen unterstützt.

2. Einlegen kleiner Stücke in 0,5%ige wässerige Goldchloridlösung im Dunkeln 1/4—1 Stunde, bis sich die Stücke hart anfühlen.

3. Reduzieren in:

Ameisensäure 20 Teile,
Wasser 100 Teile,

bis bei mikroskopischer Kontrolle die Nerven dunkelblau oder dunkelviolett erscheinen.

4. Übertragen in Glyzerin und Wechseln desselben bis es nicht mehr sauer reagiert.

5. Untersuchen im Glyzerin.

Diese Methode ist relativ empfehlenswert.

3. Ranviersche Methode.

1. Kleine Stückchen werden zerzupft und darauf 5—10 Minuten in frischen, filtrierten Zitronensaft übertragen.

2. Abwaschen in destilliertem Wasser.

3. Einlegen in 1%ige Goldchloridlösung 1/4—1 Stunde.

4. Abwaschen in destilliertem Wasser.

5. Einlegen bei kräftigem Tageslicht 1—2 Tage in Wasser, dem auf je 50 ccm 2 Tropfen Essigsäure zugesetzt sind.

6. Härten in Alkohol und entweder Einbetten und Schneiden etc., oder weiter zerzupfen und untersuchen in Glyzerin.

4. v. Freysche Methode.

1. Härten kleiner Stückchen etwa 2 Wochen in 2%iger wässeriger Lösung von Ammoniumbichromat.

2. Wässern in fliessendem Wasser 10 Minuten.

3. Übertragen in 1%ige Goldchloridlösung, welche 1 ccm Salzsäure enthält. 1 Stunde.

4. Kurzes Abspülen in Wasser.

5. Einlegen in 2%ige Chromsäurelösung im Dunkeln etwa 24 Stunden.

6. Fixieren in 5%iger unterschwefligsaurer Natriumlösung.

7. Abspülen in Wasser, Entwässern in steigendem Alkohol, Einbetten, Schneiden.

8. Entwässern der Schnitte in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Alle diese Methoden haben wie die Goldmethoden überhaupt den grossen Nachteil sehr launisch zu sein

Von sehr grosser Wichtigkeit auch an peripheren Nerven ist die Bielschowskysche Methode zur Darstellung der Achsenzylinder, wobei man die Differenzierung mit Essigsäure (damit das Bindegewebe nicht mitgefärbt ist) in der Regel einschalten muss.

Den von Ernst beschriebenen Radspeichebau peripherer Nerven kann man mit der Eisenhämatoxylin-Methode Haidenhains darstellen Hierbei färben sich auch ganz frisch degenerierte Achsenzylinder mit, normale nicht. (Ugdulena).

Zur Darstellung der primitiven Fibrillen im markhaltigen Nerven dient das:

Verfahren von Bethe und Mönckeberg.

1. Fixieren der ausgestreckten Nerven (aufspannen) in 0,25%iger Osmiumsäurelösung 24 Stunden.

2. Auswaschen etwa 6 Stunden.

3. Übertragen in 90%igen Alkohol 10 Stunden oder länger.

4. Auswaschen 4 Stunden.

5. Übertragen in 2%ige Natriumbisulphitlösung, der auf 10 ccm 2—4 Tropfen konzentrierte Salzsäure gerade vor dem Gebrauch zugesetzt sind, 6—12 Stunden.

6. Wässern 1—2 Stunden, Entwässern in steigendem Alkohol, Paraffineinbetten, Schneiden.

Schnitte aufkleben nach der japanischen Methode, (s. S. 73) Entparaffinieren, absoluter Alkohol, dünner Alkohol, Wasser.

7. Färben in $^1/_{10}$%iger wässeriger Toluidinblaulösung 10 Minuten bei 50—60°.

8. 1—2 Minuten langes Wässern.

9. Übertragen in 1%ige Ammoniummolybdatlösung einige Sekunden bis mehrere Minuten.

10. Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Neutraler Balsam. oder:

7. Übertragen in 1 bis 4%ige Ammoniummolybdatlösung 5 bis 10 Minuten unter Erwärmen auf etwa 30°.

8. Waschen in destilliertem Wasser, oft zu wechseln, Trocknen des Objektträgers.

9. Übergiessen des Schnittes mit 0,05 bis 0,1 %iger Toluidinblaulösung bei 50—60°, 5 Minuten lang.

10. Abspülen in Wasser, Entwässern in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Die Markscheiden sind osmiert, die Achsenzylinderfibrillen deutlich blau gefärbt.

Zur schnellen Darstellung der Achsenzylinder peripherer Nerven und ihrer pathologischen Produkte eignet sich das

Platnersche Verfahren.

1. Härten 1—5 Tage in 25 %iger wässeriger Lösung von Liquor ferri sesquichlorati.

2. Auswaschen so lange bis die Hinzufügung von Zyankalium keine Reaktion mehr hervorruft.

3. Übertragen in 70 %igen Alkohol, welcher einen Überschuss von Dinitroresorzin enthält, 2—30 Tage je nach der Grösse des Stückes.

4. Entwässern in absolutem Alkohol, Einbetten, Schneiden.

5. Entwässern der Schnitte in absolutem Alkohol. Xylol. Balsam.

Achsenzylinder sind smaragdgrün gefärbt.

Zur Untersuchung auf Schwannsche Zellen und Scheiden, sowie Ranviersche Schnürringe verwendet man am besten frische Zupfpräparate evtl. mit Anwendung von Färbungen, z. B. van Gieson-Färbung, bei welcher die Schwannsche Scheide rot gefärbt wird.

Die Methoden von Reich zur Darstellung der sogenannten μ- und π-Granulationen der „Nervenfaserzellen" der Schwannschen Scheide können hier nur erwähnt werden. Einzelheiten s. b. Spielmeyer Technik der Mikr. Untersuchung des Nervensystems Berlin 1911.

Hypophyse und Epiphyse.

Die allgemeinen Methoden für die Zellen dieser rätselhaften Gebilde sind Kern-Plasmafärbungen etc.

Von besonderen Methoden seien die folgenden erwähnt:

1. M. B. Schmidtsche Methode zur Darstellung der Granula der Hypophysenzellen.

1. Härten in Orthschem Gemisch, direktes Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten in Paraffin, Schneiden, oder
Härten in Formol, Schneiden auf dem Gefriermikrotom.

2. Vorfärben mit Alaunkarmin.

3. Färben, Differenzieren etc. nach der Weigertschen Fibrinmethode.

Die Kerne erscheinen dann rot, die Granula dunkelblau.

Ferner ist oft Einlegen der Stücke in Chromsäurelösungen zur Darstellung der chromophilen Zellen von Bedeutung.

Empfehlenswert ist folgende

2. Methode Cagnettos.

1. Fixieren in Formol 3—4 Tage; kurz Wässern.

2. Einlegen in 0,1 %ige wässerige Chromsäurelösung 2 Tage.

3. Einlegen in 0,25 %ige wässerige Chromsäurelösung 2 Tage bei 37°.

4. $1^1/_2$—2 tägiges Wässern, steigender Alkohol, Xylol, Paraffin. Aufkleben sehr dünner Schnitte, Entparaffinieren.

5. Färben in Säurefuchsin-Anilinwasser, das folgendermaßen bereitet wird.

3 ccm Anilinöl mit 100 ccm Wasser mischen auf etwa 80° erwärmen, erkalten lassen. Hier hinein werden 2 gr feingepulvertes Säurefuchsin gebracht und nach 24 Stunden filtriert. In dieser Lösung werden die Schnitte unter Erwärmen (bis die ersten Dämpfe aufsteigen) 5—10 Minuten gefärbt.

6. Wässern in fliessendem Wasser.

7. Differenzieren in kaltgesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung, dabei den Objektträger leicht bewegen.

8. Wässern in fliessendem Wasser, der Schnitt muss jetzt hellrot sein.

9. Kurzes Entwässern in absol. Alkohol.

10. Xylol. Balsam.

Die chromophilen Zellen allein sind lebhaft rot gefärbt, die granulationsfreien Zellen milchkaffeeartig, Bindegewebe hellrot, rote Blutkörperchen orangebraun.

Des weiteren kommt noch die feinere Einteilung der Zellen nach Formolhärtung und Chrombeizung (eventl. auch nach Alkoholhärtung) mittels Färbungen mit der Weigertschen Markscheiden- oder Gliamethode, mit der Bendaschen Eisenalizarin-Toluidinblaumethode etc. in Betracht.

Zusammenfassend sei noch bemerkt, dass sich im Nervensystem besonders folgende Methoden empfehlen.

1. Als Übersichtsbilder die van Giesonsche Methode.

2. Für die Nisslschollen der Ganglienzellen die Originalmethode Nissls.

3. Für Markscheiden die Weigertsche Methode eventl. in der Modifikation von Kultschitzky-Wolters. Zur schnellen Darstellung auch Färbung der in liquor ferri sesquichlorati gebeizten Gefrierschnitte.

4. Für Achsenzylinder und Fibrillen die Bielschowskysche Methode.

5. Für Nervendegenerationen die Marchische Methode. Zur schnellen Darstellung evtl. Scharlach R-Färbung von Gefrierschnitten.

6. Für Glia die Weigertsche Methode.

Anhang.

Seit der Einführung der Rückenmarks- und auch Gehirnpunktion kommt auch der cytologischen Untersuchung der so gewonnenen Flüssigkeiten grosse Bedeutung zu.

In der Regel werden die Flüssigkeiten zentrifugiert und das Sediment, sei es zur Untersuchung im frischen Präparat, sei es zur Darstellung von Deckglastrockenpräparaten verwandt.

Besonders kommt es hierbei darauf an zu untersuchen, ob die Zellen im Liquor vermehrt sind und insbesondere ob es sich hierbei um polynukleäre Leukocyten oder etwa um Vermehrung der einkernigen Zellen handelt, wie letzteres bei den meisten tuberkulösen Meningitiden, bei Syphilis, Tabes und Paralyse, bei der Schlafkrankheit etc. der Fall ist.

Ausstriche können auch auf die spezifischen Erreger gefärbt werden.

Dass mit den Flüssigkeiten auch serologische Untersuchungen vorgenommen werden, sei hier nur erwähnt.

An Deckglastrockenpräparaten kann man zur Darstellung der Zellen natürlich alle im Kapitel Blut erwähnten Methoden verwenden, und auch den frischen Präparaten setzt man zur Hervorhebung ihrer Zellen bezw. Kerne gut etwas Farbflüssigkeit, z. B. Methylenblau zu.

Zur quantitativen Zählung des Zellgehaltes des Liquors ist eine eigene Zählkammer von Fuchs-Rosenthal konstruiert worden.

Alzheimer empfiehlt die Flüssigkeit in einigen Kubikzentimetern 96 %igen Alkohols aufzufangen und zu zentrifugieren, wobei sich am Boden ein weisses Coagulum absetzt. (Wenn dies nicht deutlich genug auftritt, d. h. der Eiweissgehalt gering ist, setzt man am besten noch etwas Hühnereiweiss vor dem Zentrifugieren zu.) Nach Abgiessen der Flüssigkeit wird absoluter Alkohol und dann Alkohol-Äther darauf gegossen und in Celloidin eingebettet. Sodann kann man Färbungen der Schnitte vornehmen.

Empfohlen wird die Karbol-Methylgrün-Pyroninmethode (s. Seite 125), oder die Giemsamethode.

Hierbei werden die Zellen naturgemäß am besten erhalten und dargestellt.

H. Bewegungsapparat.

a) Knochen.

In der Regel müssen Knochen, um in feine Schnitte zerlegt werden zu können, fixiert und entkalkt werden. Nur unter krankhaften Bedingungen, in welchen fast keine Kalksalze vorhanden sind, (Osteomalacie etc.) ist Entkalkung überflüssig.

Man härtet am besten in Formol oder Orthschem Gemisch, oder, was Schmorl besonders empfiehlt, erst in Formol, dann in Müllerscher Flüssigkeit. Hierbei soll nach Auswässern schon makroskopisch in Knochen, welche einen Umbau erfahren haben, der alte Knochen gelb, neugebildetes verkalktes Knochengewebe grün gefärbt, die Zone der Knorpelverkalkung bei heilender Rachitis intensiv grün erscheinen.

Härtung in Alkohol oder Sublimat ist, weil leicht im Knorpel Schrumpfungserscheinungen eintreten, weniger zu empfehlen.

Die Entkalkungsmethoden sind Seite 50 angegeben worden.

Wir ziehen schweflige Säure oder Trichloressigsäure vor.

Auf die Notwendigkeit, nachher gründlich zu wässern, sei nochmals hingewiesen.

Man kann zuweilen nach der Entkalkung Gefriermikrotomschnitte herstellen, da aber leicht einzelne Teile ausfallen, bettet man in der Regel ein, und zwar besser in Celloidin, als in Paraffin, da die bei letzterem nötige Hitze manche Teile des Knochengewebes zuweilen schädigt und dies sehr spröde macht.

Es sei (wie schon Seite 55) erwähnt, dass man auch Stücke erst in Celloidin einbetten und dann in diesem entkalken kann, wobei die feinsten Strukturen am besten gewahrt werden.

Farblösungen muss man nach der Entkalkung länger als sonst anwenden, da möglicherweise noch Spuren von Säuren in den Geweben zurückgeblieben sind. Zur Neutralisation dieser legt man auch die Schnitte häufig besser vor der Färbung kurz in alkalische Flüssigkeiten ein. Besonders die Kernfärbung gelingt dann oft besser.

Während man so im allgemeinen die Knochenstücke ganz entkalkt und färbt, kann man sichere Rückschlüsse aus den entkalkten Knochen auf vorherigen Kalkgehalt, besonders erkrankter Teile, nicht mehr ziehen. Kommt es also hierauf, wie z. B. bei der Rachitis an, so muss man sich mit nicht fertig entkalkten Geweben begnügen und dann an diesen weiter untersuchen Genaueres s. unten.

Als allgemeine Knochenfärbung leistet auch hier die van Gieson-methode sehr gutes. Meist hebt sich das rot gefärbte osteoide Gewebe schon einigermaßen von dem gelbgefärbten, verkalkt gewesenen Knochengewebe ab.

Sehr zu empfehlen ist gerade hier an Knochenpräparaten eine Doppelfärbung mit Hämatoxylin und neutralem Karmin oder Eosin. Man färbt zunächst mit Hämatoxylin vor (nach Entkalkung, Celloidineinbettung, Scheiden und 12—24 stündigem Wässern), wäscht wiederum nach der Hämatoxylinfärbung aus und färbt sodann in stark verdünnter Ammoniak-Karminlösung (etwa 6 Tropfen guter alter Karminlösung auf 100 ccm Wasser) 6—12 Stunden nach, bringt den Schnitt sodann zur Entwässerung in absoluten Alkohol etc. Färbt man in Eosin nach, so soll man die Schnitte nach der Eosinfärbung längere Zeit (6—12 Stunden) in Wasser liegen lassen und sodann in absoluten Alkohol zur Entwässerung übertragen etc.

Die entkalkten Partien, sowie das osteoide Gewebe sind rot gefärbt. Bei dieser Methode nehmen die kalklosen Partien den Farbstoff allerdings noch stärker auf. Was den Knorpel betrifft, so verhält er sich wechselnd. Ruhender Knorpel färbt sich in der Regel nicht oder

wenig mit dem Karmin, die Wucherungszone ist gewöhnlich mit dem Hämatoxylin blau gefärbt. Blau färben sich auch die Osteoblasten und Knochenzellen.

Klaatsch färbt Schnitte in einer gesättigten wässerigen Lösung von Pikrinsäure 1—2 Minuten, überträgt sie dann $^1/_2$ Minute in Eisessig, wäscht in Wasser, entwässert in absolutem Alkohol, hellt in Xylol auf und schliesst in Balsam ein. Neugebildetes Knochengewebe ist dann intensiv gelb gefärbt.

Zum Studium der Entwicklungsverhältnisse des Knochens empfiehlt Schaffer folgende Modifikation einer von Bouma angegebenen Methode:

1. Fixieren, bes. in Sublimat-Chromsäure-Mischung, Entkalken in $^1/_2$%iger Chromsäurelösung, Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten, Schneiden.

2. Färben in wässeriger Safraninlösung (1 Tropfen einer 1%igen Safraninlösung auf 20 ccm Wasser) 24 Stunden.

3. Wässern, Aufziehen des Schnittes auf den Objektträger und Trocknen mit Filtrierpapier.

4. Aufhellen in Benzin, Einschliessen in Balsam.

Kleinste Spuren von Kalk im Knorpel sollen sich so gelb färben und leicht erkennbar sein.

Zur sicheren Feststellung der Ablagerungsverhältnisse von Knochensalzen in Knochen mit fraglichem Kalkgehalt genügen die bisher angegebenen Methoden nicht, und es ist daher bei Erkrankungen, bei welchen es hierauf ankommt, wie bei Osteomalacie, Rachitis etc. nötig, eine der folgenden Methoden anzuwenden:

Das wichtigste ist hier nach Pommer, den Knochen nicht völlig zu entkalken, sondern an unvollständig entkalkten Knochenstücken Schnitte vorzunehmen.

Man legt kleine Knochenstückchen in Müllersche Flüssigkeit und lässt sie hierin solange (in der Regel einige Wochen bis einige Monate), bis es gerade gelingt, Schnitte herzustellen. Der Knochen darf also nicht gänzlich entkalkt sein.

An dergleichen unvollständig entkalkten Knochenstücken kann man den Kalkgehalt ebenso gut wie an völlig unentkalkten nachweisen. Hierin liegt der Wert der Methode.

Derartige unvollständig entkalkte Knochenstücke wäscht man gründlich aus, härtet sie in steigendem Alkohol nach, bettet sie in Celloidin ein und schneidet sie, oder man legt ohne Einbettung Schnitte an.

In ungefärbten Schnitten treten die kalkhaltigen Knochenpartien durch ihr homogenes, stark glänzendes Aussehen scharf unterscheidbar von den kalklosen Knochenpartien, welche ihre fibrilläre Struktur erkennen lassen, hervor.

Weit deutlicher wird der Unterschied, wenn man die Schnitte für 6—12 Stunden in dünne Ammoniak-Karminlösung (6 Tropfen auf

100 ccm Wasser) einlegt, und dann in Glyzerin untersucht. Die nicht kalkhaltigen Partien treten dann dunkel gefärbt hervor.

Oder man behandelt die Schnitte 15—30 Minuten lang, hellem Sonnenlicht ausgesetzt, in 2—5%iger Silbernitratlösung, wäscht sie sodann in destilliertem Wasser, überträgt zur Entfernung des Silberüberschusses in eine 10%Natrium subsulfurosum-Lösung für 1—2 Minuten, wässert dann nochmals gut aus und färbt mit Hämatoxylin und Eosin nach.

Dann sind die verkalkten Gebiete schwarz, osteoides Gewebe rot, Kerne und ebenso Knorpelwucherungszone blau gefärbt.

Auch an diesen unvollständig entkalkten Stücken ist eine Hämatoxylin-Ammoniak-Karmin- bezw. Eosinfärbung in der oben angegebenen Weise zu empfehlen, oder auch nach Schmorl eine Weigertsche Eisenhämatoxylin-van Giesonfärbung, bei welcher man mit Hämatoxylin überfärbte Schnitte nach der van Giesonfärbung 1 Minute in Wasser, dann 1 Minute in Salzsäurealkohol einlegt, sodann gründlich in Wasser abspült, entwässert, in Karbolxylol aufhellt und in Balsam einschliesst. Dann erscheinen meist alle verkalkten Gewebe blauschwarz, das osteoide und kollagene Gewebe leuchtend rot, der Knorpel zeigt zwar verschiedenes Verhalten, aber doch so, dass die Wucherungszone meist schwarz dunkelblau erscheint.

Sind diese Untersuchungen am unvollständig entkalkten Knochen auch für die in Frage stehende Unterscheidung die sicherste Gewähr, so sehen ihr doch die beiden nächsten, am fertig entkalkten und somit leichter schneidbaren Knochen auszuführenden, Methoden an Sicherheit nahe.

Pommersche Methode.

1. Härten in Müllerscher Flüssigkeit.

2. Entkalken in Ebnerschem Gemisch, stundenlanges Wässern, mehrtägiges Einlegen in halbgesättigte Kochsalzlösung, Nachhärten in steigendem Alkohol, Schneiden ohne Einbetten.

3. Färben der Schnitte 12—18 Stunden in

0,002%iger wässeriger Methylviolettlösung, oder
0,004%iger wässeriger Dahlialösung, oder
0,016%iger wässeriger Safraninlösung.

4. Wässern.

5. Einschliessen und Untersuchen in Glyzerin, welchem etwas von der Farblösung, in welcher gefärbt wurde, zugesetzt ist.

Die vor der Entkalkung kalkhaltigen Partien sind gefärbt, die kalklos gewesenen nehmen die Färbung nicht an.

Methode nach Schmorl.

Schmorl findet, dass die von Best zur Glykogenfärbung angegebene Methode (s. Seite 170) sehr geeignet ist, um kalkhaltige und kalklose Partien, auch nach vollständiger Entkalkung, zu unterscheiden.

1. Fixieren in Formol etc.
2. Entkalken in wässeriger Salpetersäure oder in Formol-Ameisensäure.
3. Behandeln der Stücke mit Natriumsulfit.
4. Gründliches Auswässern.
5. Herstellen von Gefrierschnitten.
6. Färben nach Best.

Nur die verkalkt gewesenen Partien sind rot gefärbt, die anderen gar nicht oder blassrosa.

Auch mit der Schmorlschen unten zu erwähnenden Thionin-Pikrinsäuremethode kann man verkalkt gewesene Partien zumeist erkennen, da sie sich dunkler gelb färben, weil die Knochenhöhlen stärker gefärbt hervortreten.

Des weiteren kann die gleich zu erwähnende Recklinghausensche Methode zur Darstellung der sogenannten Gitterfiguren zur Unterscheidung herangezogen werden, welche nach v. Recklinghausen eine Kalkentziehung, Halisterese, nach anderen Autoren nur allgemein mangelhafte Verkalkung anzeigen.

Zur Darstellung des basophilen Charakters der Osteoblasten und Osteoklasten dient folgende

Methode von Askanazy.

1. Härten, Entkalken, Nachhärten, Einbetten, Schneiden.
2. Färben der Schnitte in Löfflerschem Methylenblau 5—10 Minuten.
3. Abspülen in destilliertem Wasser.
4. Nachfärben in 95%igem Alkohol, welchem 2 Tropfen einer gesättigten alkoholischen Eosinlösung oder 5 Tropfen einer gesättigten wässerigen Orange G-Lösung zugesetzt sind. 2—5 Minuten.
5. Entwässern in absolutem Alkohol kurz.
6. Xylol. Balsam.

Kerne hellblau, Kerne der Osteoblasten und Osteoklasten dunkelblau, Grundsubstanz gelb bis rot gefärbt.

Knochenschliffe, welche in der normalen Anatomie eine grosse Rolle spielen, werden in der pathologischen Histologie kaum benötigt.

Zu ihrer Herstellung fixiert man am besten in Sublimatlösung, wäscht in Wasser aus, härtet in Alkohol nach, färbt das Stück en bloc durch und stellt dann die Schliffe her, indem man kleine Stücke für 24 Stunden in dicke Gummilösung, dann ebensolange in starken Alkohol einlegt und dann mit Feilen etc. schleift. Wegen aller Details sei auf die Lehrbücher der Histologie hingewiesen.

Auch ist von Arndt eine sogenannte Präzisionssäge empfohlen worden, d. h. eine Doppelsäge, welche in ähnlicher Weise Knochenschliffe herstellt, wie das Seite 13 erwähnte Doppelmesser-Schnitte durch weiche Organe.

Zur Darstellung einzelner Strukturelemente des Knochens sind Methoden angegeben worden, von welchen folgende erwähnt werden sollen.

I. Sharpeysche Fasern.

Zu ihrer Demonstration dienen folgende Methoden:

1. Ebnersche Methode.

Schnitte entkalkter Knochen werden mit gesättigter Kochsalzlösung oder starker Salzsäurelösung behandelt.

Bei starker Abblendung treten dann die Sharpeyschen perforierenden Fasern ganz dunkel hervor.

2. Köllikersche Methode.

1. Härten, Entkalken, Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten, Schneiden.

2. Einlegen des Schnittes in Eisessig, bis er durchsichtig ist.

3. Färben in gesättigter wässeriger Lösung von Indigokarmin $^1/_4$—10 Minuten.

4. Waschen in Wasser.

5. Einlegen und untersuchen in Glyzerin.

Die Sharpeyschen Fasern sind rôt, die Grundsubstanz ist blau gefärbt.

3. Vorzüglich färben sich die Sharpeyschen Fasern nach der Bielschowsky-Methode (s. Seite 128).

4. Die Benekesche Modifikation der Weigertschen Fibrinfärbung, (s. S. 193) stellt die Sharpeyschen Fasern, wenn auch unsicher, blau dar.

II. Knochenlakunen und ihre Ausläufer.

Hier stehen folgende Methoden zur Verfügung:

1. Recklinghausensche Methode.

Einlegen von Schnitten bezw. Schliffen unentkalkten Knochengewebes in starke Alaunlösung für 10 Minuten.

Es wird hierbei Kohlensäure frei, und diese dringt in die Lakunen und Kanälchen ein.

Man untersucht in Glyzerin und beobachtet den Prozess unter dem Mikroskop mit der schwachen Vergrösserung bei Abblendung.

Noch schärfer treten die genannten Gebilde hervor, wenn man gleichzeitig eine Tinktion vornimmt, indem man statt der Alaunlösung eine Alaun-Karminlösung benutzt.

Will man Dauerpräparate herstellen, so tupft man die Präparate, wenn die stärkste Gasentwicklung im Gange ist, mit Filtrierpapier ab und bettet in Wasserglas ein.

Dass sich hierbei die Gitterfiguren darstellen, ist bereits oben erwähnt.

2. Zimmermannsche Methode.

Man benutzt dünne abgeschliffene Schnitte nicht entkalkten Knochengewebes und bringt diese zur Entfettung unter Erwärmen 2 Minuten etwa in Xylol, trocknet sodann gut und färbt unter Erwärmen 2 Minuten in gesättigter alkoholischer Fuchsinlösung; sodann legt man die Schnitte, so zwar, dass sie völlig mit Farbe bedeckt sind, auf die beiden Schenkel einer Pinzette und lässt die Farbe eintrocknen. Nach 2—3 Tagen schabt man die Farbe mit einem Messer vorsichtig ab, erhitzt nochmals in Xylol und schliesst in Balsam ein. Die Kanälchen erscheinen dann rot gefärbt.

3. Schmorlsche Methoden.

Dieselben sind überaus wichtig geworden und geben sehr elegante Bilder. Ihr ganz besonderer Vorzug liegt darin, dass sie am entkalkten Präparat vorgenommen werden können und somit weit grössere Feinheiten zeigen. Die Schmorlschen Methoden haben somit die beiden anderen so weit zurückgedrängt, dass sie fast nur noch historisches Interesse haben.

α) Methode mit Thionin und Differenzierung in Phosphorwolframsäure.

1. Fixieren kleiner Knochenstücke in Formol.

2. Nachhärten in Müllerscher Flüssigkeit 6—8 Wochen, bezw. 3—4 Wochen im Brütschrank.

Auch andere Fixierungsmethoden sind möglich, aber weniger gut. (Sublimat nicht zu empfehlen.)

3. Auswaschen in Wasser 24 Stunden.

4. Entkalken mit irgend einer Methode; am meisten ist Ebnersche alkoholische Salzsäure zu empfehlen, dann fällt Nr. 3 (Wässern) weg.

Sind die Stücke, wie bei Rachitis oder Osteomalacie auch ohne Entkalkung schneidbar, so ist die Methode ebenfalls anwendbar.

Nach sorgfältigem Wässern wird sodann in steigendem Alkohol nachgehärtet, in Celloidin oder Paraffin eingebettet, oder es werden Gefrierschnitte hergestellt.

Die Schnitte müssen dünn sein.

5. Einlegen der Schnitte in Wasser mindestens 10 Minuten.

6. Färben in konzentrierter wässeriger Thioninlösung, welche zur Hälfte mit Wasser verdünnt ist, 5 Minuten, oder in folgender ammoniakalischer Thioninlösung 3 Minuten:

Konzentrierte Lösung von Thionin in
50%igem Alkohol 1 ccm,
Aqua dest. 10 ccm,
Liquor ammonii caust. 1—2 Tropfen.

7. Wässern.

8. Übertragen der Schnitte in Alkohol 1—2 Minuten.

9. Abspülen in Wasser.

10. Übertragen der Schnitte mit Glasnadeln in gesättigte wässerige Lösung von Phosphorwolframsäure (oder weniger empfehlenswert Phosphormolybdänsäure) einige Sekunden (längeres Liegenlassen schadet nichts).

11. Wässern bis die Schnitte einen himmelblauen Ton haben, etwa 5—10 Minuten (längeres Wässern schadet nichts).

12. Fixierung der Färbung in 20%igem Formalin 1—2 Stunden oder in: Liquor ammonii caust. 10 ccm, Wasser 100 ccm, 5 Minuten.

13. Direktes Übertragen in einmal zu wechselnden 90%igen Alkohol.

14. Entwässern in 96%igem Alkohol, bezw. in absolutem Alkohol.
15. Karbolxylol, (nur kurz) bezw. Xylol. Balsam.

Wenn die Grundsubstanz zu dunkel gefärbt erscheint (bei zu lange in Müllerscher Flüssigkeit aufbewahrten Objekten oder Überfärbung mit Thionin), so bringt man die Schnitte zwischen Nr. 12 und 13 für 3—5 Minuten in Salzsäurealkohol und wäscht dann gründlich mit Wasser aus, entwässert etc.

Sollten hierbei die zelligen Elemente zu stark abgeblasst sein, so färbt man mit Hämatoxylin nach.

Bei dieser Methode sind die Knochenhöhlen und ihre Ausläufer dunkel blauschwarz, die Zellen, besonders ihre Kerne, blau gefärbt.

Bei Knochen von Erwachsenen und Kindern, sowie auch bei Zahnkanälchen, gelingt diese Methode Schmorls gut.

Die Grundsubstanz ist nach Schmorl je nach der Art der Fixierung und Nachbehandlung verschieden dargestellt. Ist in Nr. 12 die Färbung mit Formol fixiert, so ist sie hellblau, wurde dort mit Ammoniak fixiert, so ist sie bei Härtung in Müllerscher Flüssigkeit rötlich oder rot, sonst farblos bis grünblau.

Um die fibrillären Strukturen des Knochengewebes noch deutlicher hervortreten zu lassen, empfiehlt

Schmorl folgende Modifikation:

1. Fixieren in Formol, Nachhärten in Müllerscher Flüssigkeit, Entkalken in wässeriger Salpetersäure, Einbetten oder Gefrierschnitte.
2. Färben in konzentrierter wässeriger Thioninlösung, welche zur Hälfte mit Wasser verdünnt ist, $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde.
3. Abspülen in Wasser.
4. Einlegen in 96%igen Alkohol 1—3 Minuten.
5. Abspülen in Wasser.
6. Einlegen in Phosphorwolframsäure 10—25 Minuten.
7. Auswaschen in fliessendem Wasser, 2 Stunden oder länger.
8. Übertragen in 5%ige wässerige (Aqua dest.) Kalialaunlösung 1—2 Stunden.
9. Wässern in fliessendem Wasser 3—12 Stunden.
10. Entwässern.
11. Xylol (Karbolxylol), Balsam.

Die farblosen Knochenfibrillen heben sich gut von der dazwischenliegenden dunkelblau gefärbten Kittsubstanz ab.

Diese Schmorlsche Methode dient auch insofern zur Unterscheidung kalkloser und kalkhaltiger Knochenpartieen, aber nur am unentkalkten Knochen nach Formolhärtung bei Rachitis oder Osteomalacie angewandt, als dann kalklose Teile rotviolett, kalkhaltige farblos erscheinen.

Entkalkt man unvollständig in Müllerscher Flüssigkeit, wendet dann die Methode an und schliesst in Glyzerin ein, so sind die kalkhaltigen Partien rotviolett, die kalklosen hellblau gefärbt.

β) Schmorlsche Methode mit Thionin-Pikrinsäure.

1. Fixieren in Formol, Orthschem Gemisch oder einer anderen Fixierungsflüssigkeit ausser Sublimat.

2. Entkalken beliebig, am besten in Müllerscher Flüssigkeit, oder Formol mit Zusatz von Salpetersäure, oder in Kochsalz-Salzsäurelösung.

3. Gründlich Wässern, Herstellen von Gefrierschnitten, oder Nachhärten in steigendem Alkohol, Einbetten in Celloidin (nicht in Paraffin), Schneiden.

4. Übertragen der Schnitte in Wasser für mindestens 10 Minuten.

5. Färben der (gut ausgebreiteten) Schnitte in folgender Lösung 5—10 Minuten oder länger:

Konzentrierte Lösung von Thionin in 50%igem Alkohol 2 ccm,
Aqua dest. 20 ccm,

event. unter Zusatz von 1—2 Tropfen Liquor ammonii caust.

6. Abspülen in Wasser.

7. Übertragen in heissgesättigte und kalt filtrierte Lösung von Pikrinsäure $^1/_2$—1 Minute.

8. Abspülen in Wasser.

9. Differenzieren in 70%igem Alkohol 5—10 Minuten oder länger, d. h. bis keine gröberen blaugrünen Farbstoffwolken mehr abgehen.

10. Entwässern in 96%igem Alkohol.

11. Karbolxylol, bezw. Xylol. Balsam.

Knochenhöhlen und Ausläufer dunkelbraun bis schwarz dargestellt, Zellen rot. Grundsubstanz gelb bis gelbbraun.

Es handelt sich hier weniger um eine eigentliche Färbung, als um eine Imprägnation der Knochenhöhlen und ihrer Ausläufer mit feinsten Farbstoffniederschlägen.

Sollten diese auch ausserhalb der Knochenhöhlen zu zahlreich auftreten, so bringt man die Schnitte zwischen 9 und 10 nochmals in Wasser, wo man sie $^1/_2$ -1 Stunde liegen lässt, dann 10. zur Entwässerung in den Alkohol etc.

Die Grundsubstanz ist dann nach Härtung in Müllerscher Flüssigkeit blau, nach Formolhärtung und Salpetersäureentkalkung farblos.

Man kann auch eine Hämatoxylinfärbung der Kerne mit der Methode vereinigen und kann diese nachfolgen oder vorangehen lassen: in letzterem Falle muss man stark überfärben, da sonst die Pikrinsäure die Hämatoxylinfärbung auszieht.

Kalkhaltige Knochensubstanz ist intensiver gefärbt als kalklose, indem in ersterer die Knochenhöhlen stärker hervortreten (bereits oben erwähnt).

Die erste Schmorlsche Methode scheint sicherer, als die zweite zu sein.

Nach Donati geben die Schmorlschen Methoden auch an Knochen, welche schon Jahre lang mazeriert sind, noch gute Resultate.

Die Goetschsche Modifikation der Schmorlschen Methode (statt des Thionin konzentrierte Lösung von Neutralrot in 5%iger Karbolsäure, Wässern und Differenzieren in Pikrinsäurelösung mit 0,1%igem Sublimatzusatz) scheint vor der Originalmethode keinerlei Vorzüge aufzuweisen.

Die meisten speziell im Knochensystem interessierenden Punkte sind gut dargestellt in den Artikeln von Schaffer in der Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie Bd. 5 und 10, sowie in dem von demselben Autor verfassten Artikel „Knochen und Zähne" in der Encyclopädie der mikroskopischen Technik.

b) Knorpel, Gelenke, Muskeln.

Knorpel färbt sich mit Hämatoxylin und zwar die Wachstumszone besonders intensiv.

Auch bei der Weigertschen Methode auf Fibrin und elastische Fasern färbt sich der Knorpel in der Regel blau bezw. rot mit, so auch mit der Röthigschen Kresofuchsinlösung s. Seite 140.

Auch bei den Färbungen auf Schleim mit Thionin (s. S. 160) etc. färbt sich der Knorpel in der Regel metachromatisch rot mit.

Bei Gicht (Harnsäureablagerung) fixiert man am besten in absolutem Alkohol.

Am Muskelgewebe kann man häufig schon mit Hilfe von Zupfpräparaten, insbesondere bei Verwendung einer Mazerierungsflüssigkeit, das Nötige erkennen.

Sonst fixiert man in Formol, Orthschem Gemisch oder dergl., event. auch Sublimatlösungen (Heidenhainsche Eisenhämatoxylinfärbung) und bettet besser in Celloidin, als in Paraffin ein, weil in letzterem Muskeln sehr spröde werden und sich schlecht schneiden.

Man färbt mit allgemeinen Kern-Plasmafarben, besonders nach der van Giesonmethode, wobei sich die Muskelfasern scharf und intensiv gelb gefärbt von dem rot gefärbten Bindegewebe abheben.

Bei Untersuchung von Degenerationszuständen (Verfettung, wachsartige etc. Degeneration) genügen oft schon Zupfpräparate, doch geben hier auch Gefrierschnitte nach Formolhärtung, besonders in Kombination mit Fettfärbungen, sehr gute Bilder.

Für Details der Muskulatur sei die Heidenhainsche Eisenhämatoxylinfärbung nach Sublimathärtung, sowie das Bielschowskysche Verfahren nach Formolhärtung empfohlen. Für das Sarkolemm ist die letztere Methode sehr zu empfehlen.

Die Querstreifung tritt auch im ungefärbten oder mit sauren Anilinfarben gefärbten Präparat bei starker Abblendung deutlich hervor.

Zur Unterscheidung von Muskulatur und Bindegewebe ist event. auch das Mallorysche Dreifarbenverfahren bezw. dessen Modifikationen zu empfehlen. Hierbei färben sich das Bindegewebe leuchtend blau, die Muskelfasern hellrot.

Für die Muskelspindeln empfiehlt Amersbach die Spielmeyersche Gefrierschnitt-Markscheidenmethode (s. Seite 304).

Die sogen. Myogliafasern färben sich mit der Malloryschen Methode für die sogen. Fibrogliafibrillen (s. S. 137).

I. Genitalapparat.

a) Weiblicher Genitalapparat.

Frische Schnitte führen hier in der Regel nicht weit, sodass man in den bekannten Fixierungsmitteln, unter denen sich auch hier Formol und Orthsches Gemisch empfehlen, fixieren und einbetten muss.

Hier ist, da in Paraffin die glatte Muskulatur des Uterus oft sehr schwer schneidbar wird, Celloidin entschieden vorzuziehen.

Als Färbemethode ist die van Giesonmethode, welche im Myometrium, wie auch insbesondere in Myomen Muskulatur und Bindegewebe sehr gut unterscheiden lässt, sehr zu empfehlen.

Dasselbe gilt im allgemeinen auch für die Plazenta, doch empfiehlt hier Schmorl vor allem für frühe Stadien Fixierung in Flemmingschem oder Hermannschem Gemisch oder in Zenkerscher Lösung. Bonnet rühmt hierbei eine Färbung in Heidenhainschem Eisenhämatoxylin.

Ausgekratzte Massen, sogenannte Curettements kann man nur selten auf dem Gefriermikrotom schneiden. Da es im allgemeinen auf schnelle Untersuchung ankommt, wendet man am besten die Paraffinschnellmethode oder auch event. die Celloidinschnellmethode (s. S. 62) an.

Gewöhnlich nimmt man hierbei zahlreiche kleine Bröckel zu einem Block zusammen, denn da sich die Veränderungen, z. B. Karzinom, oft nur an wenigen Stellen finden und die Untersuchung überhaupt sehr schwierig sein kann, kommt es darauf an, das ganze zur Verfügung stehende Material zu untersuchen.

Wenn genügend Zeit vorhanden ist, fixiert man zunächst in Formol und legt dann erst die Stücke in Alkohol. Sie schneiden sich dann nachher meist viel leichter.

Zur Färbung ist auch hier die van Giesonmethode zu empfehlen.

Oft kommt es darauf an, Reste von Schwangerschaft zu finden, also Zotten oder Deciduazellen, bei welch letzteren man nicht vergessen darf, dass ganz ähnliche Zellen sich auch ohne Schwangerschaft, vor allem im entzündeten Endometrium, finden können.

Auch hier kommt es auf Einbettung sämtlicher Stücke und Anwendung der gewöhnlichen Färbemethoden an, doch kann man häufig auch schon an frischen Zupfpräparaten nach Zotten und Deciduazellen suchen, event. unter Zuhilfenahme von Zusatz einer Farbflüssigkeit.

Bei den sehr häufigen gonorrhoischen Erkrankungen der Tube kommt es besonders auf die Darstellung der Plasmazellen (Methoden s. Seite 124) und eventuell der eosinophilen Zellen (Methoden s. Seite 263) an.

Im Ovarium leisten ausser den gewöhnlichen Methoden Gefrierschnitte und Fettfärbungen zur Darstellung der Corpora lutea, sowie der sogenannten ungeplatzt zu Grunde gegangenen Follikel gute Dienste.

Auch kommt es hier (Luteïnzellen) auf die Darstellung der fettähnlichen Körper an.

Auch für die Mamma ist Formolhärtung und Anfertigung von Gefrierschnitten, sowie Einbettung besonders in Celloidin zu empfehlen.

Für Übersichtsbilder kommt auch hier die van Giesonsche Methode, daneben oft die Färbung auf elastische Fasern in Betracht. Letztere auch bei Karzinom, welches zuweilen kolossale elastische Massen enthält.

Ein besonders von Revis und Moore angegebenes Verfahren zur Darstellung von Bakterien, insbesondere Tuberkelbazillen in der Milch, vergl. Journal of Pathology 1900. S. 291.

b) Männlicher Genitalapparat.

Auch hier werden die gewöhnlichen Fixationsmittel, Einbettung, und Kern-Plasmafärbungen, insbesondere ebenfalls die van Giesonmethode angewandt.

Im Hoden ist eine Färbung auf elastische Fasern, auch z. B. zur Unterscheidung von Tuberkulose und Syphilis, häufig von grossem Nutzen.

Auch Färbungen auf Tuberkelbazillen kommen hier häufig in Betracht.

Desgleichen Gefrierschnitte und Fettfärbungen, wobei man daran denken muss, dass auch der normale Hoden und zwar in verschiedenen Altersperioden an verschiedenen Stellen Fettkörnchen in grösseren Massen enthält.

Zur Darstellung des in den Zwischenzellen vorhandenen Pigmentes färbt man am besten nur die Kerne mit Karmin.

Um die Spermatogenese zu studieren, kommen die für Mitosen charakteristischen Methoden in Betracht.

Verwendet man hierbei als Fixationsmittel osmiumsäurehaltige Flüssigkeiten, so färbt sich gleichzeitig das Fett schwarz mit.

Anhang.

Untersuchung von Samenflecken zu gerichtlichen Zwecken.

Es kann wichtig werden an irgend einem Material haftende Flecken auf Spermatozoen zu untersuchen.

Man nimmt hierbei zumeist eine Voruntersuchung vor mit der Florenceschen Reaktion.

Hierzu dient folgende Jodlösung:

Jod 1,65 gr,
Jodkalium 2,54 gr.
Wasser 30 ccm.

Diese Jodlösung wird mit einer Aufweichung des fraglichen Fleckens zu gleichen Teilen gemischt.

An der Berührungsstelle bilden sich lange rhombische Kristalle von brauner oder violetter Farbe.

Am besten bringt man einen Tropfen der beiden Flüssigkeiten auf den Objektträger nebeneinander, legt das Deckgläschen auf und beobachtet unter dem Mikroskop.

Fällt die Probe negativ aus, so ist Sperma gewöhnlich nicht vorhanden, doch muss man daran denken, dass bei Vorhandensein von Fäulnisvorgängen die Reaktion verhindert wird.

Statt der eben angegebenen Florenceschen Reaktion empfehlen Kobert-Takajama folgendes Reagens:

2 %ige Kaliumjodat- und 2 %ige Jodkaliumlösung werden gerade vor dem Gebrauch zu gleichen Teilen gemischt und durch Zusatz von verdünnter Sodalösung schwach alkalisiert.

Das fragliche Objekt kommt in diese Mischung, welche man dann ganz gering mit Säure ansäuert.

Bei dieser, wie bei der Florenceschen Probe ist der positive Ausfall nicht beweisend, der negative nur, falls keine Fäulniserscheinungen vorhanden sind.

Eine als ganz charakteristisch für menschliche Spermatozoen angegebene Methode stammt von Barberio.

Er bringt auf den Objektträger einige Tröpfchen eines wässerigen Auszuges des verdächtigen Fleckens und dazu einen Tropfen konzentrierte wässerige Pikrinsäurelösung.

Bildet sich eine Trübung und sieht man mikroskopisch gelb gefärbte rhombische Kristalle, so soll menschliches Sperma vorhanden sein.

Im übrigen kommen die mehr direkt histologischen Methoden in Betracht.

Man versucht von den fraglichen Flecken kleine Schüppchen abzulösen, löst diese auf dem Objektträger in physiologischer Kochsalzlösung durch Zerzupfen und untersucht mikroskopisch.

Alte Flecken lassen aber derartige Schüppchen nicht loslösen, da sie zu fest eingedrungen sind. Man muss dann ein Stückchen des Gewebes mit dem Flecken entfernen und den Flecken am besten im Uhrschälchen lösen.

Statt diese Lösung in destilliertem Wasser vorzunehmen, in welchem die Samenfäden leicht anschwellen und der Kopf sich vom Faden löst, benutzt man besser Wasser, dem auf je 40 ccm 1 Tropfen Salzsäure zugesetzt ist. Statt des salzsäurehaltigen Wassers ist auch Glyzerin oder ein Gemisch von Glyzerin und Kochsalzlösung zu gleichen Teilen empfohlen worden.

Ist das Stückchen Gewebe hierin unter Zerzupfen erweicht, so kann man es auf den Objektträger anpressen und abziehen, wobei die losgelösten Partikel zur Untersuchung kommen.

Oder man zentrifugiert bezw. sedimentiert die Lösungsflüssigkeit und untersucht das Sediment.

Die Spermatozoen kann man ungefärbt untersuchen oder durch Zusatz einer Farbflüssigkeit z. B. Neutralrot, oder Säurefuchsin, welche den Kopf rot färben, oder nach Wederhake durch Zusatz eines Tropfens Jodtinktur, der eine gleiche Menge filtrierter, konzentrierter (70 %ig-)alkoholischer Lösung von Croceinscharlach (Kalle, Biebrich) zugesetzt ist:

Oder man macht Deckglastrockenpräparate und färbt sie mit Hämatoxylin-Eosin, wobei sich der Faden und ein Teil des Kopfes rot, der hintere Teil des Kopfes blau färbt.

Eine gute Kombinationsmethode zum Erweichen des fraglichen Fleckens und gleichzeitiger Färbung evtl. vorhandener Samenfäden ist diejenige nach Ungar.

Man benutzt folgende Mischung:

Methylgrün 1 gr,
Salzsäure 15 Tropfen,
Destilliertes Wasser 350 ccm.

Hierin lässt man die Stückchen mit dem Flecken 1—6 Stunden.

Man kann dann das Sediment der Flüssigkeit oder evtl. das am Gewebsfetzen hängende Material durch Ausstreichen auf das Deckgläschen oder den Objektträger frisch oder nach Anlegung eines Deckglastrockenpräparates (Dauerpräparat) untersuchen.

Auch auf andere Weise gelöstes Material kann man mit dieser Mischung färben. Wenn Spermatozoen vorhanden sind, so färbt sich ihr Kopf dunkelgrün, der übrige Teil des Samenfadens ist hell gefärbt.

(Eine ganz neue Zusammenstellung von Joesten s. Münchner medizinische Wochenschrift 1911, S. 1817).

K. Äussere Haut.

Man kann Hautstücke in Formol fixieren und auf dem Gefriermikrotom schneiden, oder man fixiert in Formol oder einem sonst üblichen Fixationsmittel und bettet ein.

Hierbei ist Celloidin dem Paraffin vorzuziehen, da die Schnitte in letzterem leicht zu hart und spröde werden. Man vermeide daher bei der Paraffineinbettung zu langes Liegenlassen in Alkohol oder Xylol.

Von gewöhnlichen Kern-Plasmafärbungen kommt eine solche mit Karmin und Pikrinsäure oder Hämatoxylin-Eosin evtl. auch Hämatoxylin-Pikrinsäure und vor allem die van Giesonmethode in Betracht.

Bei zahlreichen Erkrankungen, besonders syphilitischer Natur, Lupus etc. ist eine Färbung auf Plasma- und Mastzellen (s. S. 124) indiziert, desgleichen sehr häufig eine Darstellung der elastischen Fasern oder des Elacins (Unna), des weiteren muss auf das Pigment geachtet werden.

Die kollagenen Fasern stellt man mittels der im Kapitel XI angegebenen Methoden dar.

Zur Färbung der Bakterien und besonders der auf der Haut schmarotzenden sogenannten epiphytischen Bakterien wird nach den im Kapitel Bakteriologie angegebenen Methoden verfahren.

Die Hornsubstanz wird mittels der Gramschen Methode, event. mit Differenzieren in Salzsäurealkohol oder mit der Malloryschen Färbung nach Formolhärtung dargestellt.

Bei der Weigertschen Färbung auf elastische Fasern behält die Hornsubstanz meist eine hellrote Färbung bei. Wegen aller Einzelheiten s. Kapitel Horn.

Die Methoden zur Darstellung des Keratohyalins und des Eleïdins sind bereits auf S. 173 dargestellt.

Hier angegeben werden sollen noch die Methoden zur Färbung der Epithelfasern

Dieselben färben sich sehr schön rot mit der Schriddeschen. Modifikation der Altmannschen Methode (s. S. 120).

Besonders empfehlenswert ist die Heidenhainsche Eisenhämatoxylinmethode, nur muss hier die Differenzierung sorgfältig überwacht werden.

Des weiteren kommen folgende speziellere Methoden in Betracht

1. Kromayersche (Benekesche) Methode.

Dieselbe stellt eine Modifikation der Weigertschen Fibrinmethode dar und wurde in ähnlicher Form auch schon von K. Herxheimer verwandt.

1. Härten in Alkohol, Einbetten in Paraffin, Herstellung sehr dünner (bis 5 μ) Schnitte, Entparaffinieren derselben in Xylol, Übertragen in absoluten Alkohol, sodann in dünnen Alkohol, Aufziehen auf den Objektträger, Antrocknen mit Filtrierpapier.

2. Färben in einem Gemisch zu gleichen Teilen von Anilinwasser und gesättigter wässeriger Lösung von Methylviolett VI B etwa 10 Minuten.

3. Gründliches Wässern.

4. Jodieren mit verdünnter Lugolscher Lösung (Lugolsche Lösung 1 Teil, Wasser 2 Teile) einige Sekunden.

5. Wässern, Abtrocknen des Schnittes mit Filtrierpapier, so weit, dass der Schnitt noch einen ganz leicht feuchten Glanz behält, also nicht ganz trocken liegt.

6. Differenzieren mit im Paraffinofen erwärmtem Anilinxylol, und zwar Anilin 1 Teil, Xylol 2—3 Teile.

So lange differenzieren bis keine Farbwolken mehr abgehen und bei mikroskopischer Kontrolle die Fibrillen deutlich hervortreten.

7. Gründliches Auswaschen in Xylol. Balsam.

Die Epithelfasern sind dunkelblau gefärbt.

Eine Vorfärbung der Kerne etwa mit Lithionkarmin kann man leicht vornehmen.

2. Unnasche Methoden.

Unna hat zu diesem Zwecke eine grosse Reihe von Methoden angegeben, so mit Hämatoxylin und Pikrinsäure, Hämatoxylin und Orceïn, Wasserblau und Orceïn, Wasserblau-Orceïn und Safranin.

Während wir diese hier nicht wiedergeben können, soll folgende Methode, ebenfalls eine Modifikation der Weigertschen Fibrinmethode hier ihren Platz finden.

1. Härten in Alkohol, Einbetten in Celloidin, Schneiden.

2. Färben in:

Gentianaviolett 1,5 gr,
Alaun 10 gr,
Aqua dest. 100 ccm

1 Stunde.

3 Abspülen in Wasser.

4. Jodieren in einer 5%igen Jodkaliumlösung, der ein Jodkristall zugesetzt ist, einige Sekunden.

5. Abtrocknen auf dem Objektträger und Differenzieren mit Anilinxylol, (1 zu 4).

6. Weiteres Differenzieren in Anilinxylol, (1 zu 1).

7. Auswaschen in Xylol, Balsam.

3. Pasinische Methode,
welche zugleich das Keratohyalin färbt, s. daher S. 174.

4. K. Herxheimersche Methode
mit Beizen in Liquor ferri sesquichlor. und Färben mit Alizarin.

Zur Darstellung der Interzellularbrücken der Stachelzellen an frisch getöteten Tieren hat Kolossow unter anderem folgende Methode angegeben.

Man injiziert einem gerade getöteten Tiere in das Gefässystem physiologische Kochsalzlösung und dann folgende Lösung.

$^1/_2$%ige wässerige Osmiumsäurelösung 100 ccm,
30%ige Salpetersäure $^1/_2$—1 ccm,
Eisessig 1 ccm,
Kaliumnitrat 10 — 12 gr.

Kleine Stücke des so injizierten Gewebes werden für 24 Stunden in $^1/_2$%ige Osmiumsäurelösung eingelegt, dann für 24 Stunden in mehrfach zu wechselnde 10%ige Tanninlösung übertragen, in Wasser und 70%igem Alkohol gewaschen, in absolutem Alkohol entwässert, in Paraffin eingebettet, geschnitten und die Schnitte ohne weiter gefärbt zu werden in Balsam eingeschlossen.

Auch gewisse Metallmethoden, so Silberimprägnationen werden für mancherlei Hautstrukturen, und ebenso Goldimprägnationen für die Nervenendigungen und Tastkörperchen zuweilen angewandt. Desgleichen für die Interzellularbrücken, welche man im übrigen im ungefärbten oder mit den gewöhnlichen Kern-Plasmamethoden gefärbten Schnitte durch starkes Abblenden meist ohne weiteres nachweisen kann.

Wegen der sehr vielen von Unna angegebenen Methoden speziell für die Haut vergl. dessen zahlreiche Artikel in seinen „Monatsheften für praktische Dermatologie."

Wegen der besonderen Methoden, welche zur Untersuchung des Auges angegeben wurden, sei auf die Bücher von Greeff, Berlin (Hirschwald) 1898 und Seligmann, Berlin (Karger) 1911 (2. Auflage) verwiesen.

Desgleichen wegen einiger hauptsächlich zur Untersuchung des Ohres bedeutsamen Methoden auf den Artikel von Wittmaack in der Zeitschrift für Ohrenheilkunde Bd. 51.

Autorenregister.

Abbé 4.
Abbot 222.
Aguerre 326.
Albrecht, E. 189.
Altmann 43, 45, 119, 147, 254, 256, 270.
Alzheimer 329, 334.
Anderson 320.
Anglade 325, 327.
Amersbach 344.
André 187.
Apáthy 62, 156.
Arndt 343.
Arnold 22, 24, 121, 170, 250.
Aronson 263.
Aschoff 158.
Askanazy 342.
Assmann 272.
Azoulay 298.

Babes 115, 211, 220.
Barach 144.
Barberio 346.
Barfurth 169.
Bartel 282, 325.
v. Baumgarten 118, 233.
Beale 96, 126.
Beitzke 224, 229.
Benda 42, 105, 116, 153, 234, 285, 320.
Beneke 193, 284, 339.
Berger 239.
Berner 286.
Bernhardt 224.
Bertarelli 182, 241.
Best 170, 269, 338.
Bethe 316, 317, 331.
Biedert 224.
Bielschowsky 100, 128, 182, 200, 269, 277, 283, 285, 298, 310, 328, 339.
Biondi 117, 173, 279, 282, 285.
Birch-Hirschfeld 166, 230, 234.
Bizzozero 235.
Blumenthal 221.
Boas 153.
Boeck 235.
Böhm 283, 284.
Böhmer 103.
Bohne 245.
Bolton 68.
Bonney 113.
Bostroem 234.
Bouma 336.
Browicz 281.
Bruce 217.
Bunge 180, 214, 232.
Burchardt 88.
Burkhardt 44, 88.
Butterfield 266.
Burri 240.
Busch 320, 321.
Busse 236.
Buzzi 175.

Cagnetto 333.
Callum Mc 180, 187.
Carnoy 38.
Charcot 250, 278.
Chenzinski 258.
Chilesotti 306.
Ciaccio 147, 156, 157, 158.
Claudius 208.
Cohnheim 99.
Cohn 285, 290.
Conky Mc 213.
Corning 315.
Courmont et André 187.
Cox 298, 315.
Curschmann 278.
Czaplewski 206, 224, 227.

Daddi 149.
Dantschakoff 78.
Deetjen 250.
Delafield 103, 131, 257.

Delépine 113, 169.
Dietrich 157, 158.
Dimmer 76.
Dogiel 316.
Donaggio 312, 320.
Donati 342.
Doutrelepont 232.
Dragendorf 273.
Drasch 330.
Dreysel 175.
Driessen 170.
Ducrey 210, 219.
Dürck 144, 275.
Durham 254.

Eberth 218.
v. Ebner 53, 337, 339.
Edens 166.
Edinger 9.
Ehrlich 87, 88, 91, 103, 126, 169, 225, 227, 251, 256, 257, 262, 265, 267, 270, 316.
Ehrlich-Biondi-Heidenhain 117, 173.
Ellermann 224.
Eppinger 282.
Erlandsen 224.
Erliky 40, 301, 314.
van Ermengem 100, 215, 241.
Ernst 163, 173, 331.
Esbach 227.
Exner 305.

Falckenberg 177.
Farrant 246.
Fayersztajn 309.
Fick 174.
Ficker 221.
Ficandt 328.
Field 68.
Fischel 316.
Fischer 154, 157, 158, 186, 211, 215, 272.
Fischer, A. 34, 88.
Fischer, B. 98, 140, 141, 149.
Fischler 286.
Flechsig 303.
Flemming 43, 44, 55, 151.
Flexner 219.
Florence 346.
Flormann 234.
Floyd 37.
Ford-Robertson 305, 315, 328.
Fox 325.
Fränkel, B. 226.
Fränkel, E. 143, 198, 210, 216, 217, 220, 235, 305.
Freifeld 266.
Frey 97 330.
Friedländer 114, 213, 216, 218.
Friedrich 230.
v. Frisch 218.
Fuchs-Rosenthal 334.
Funke 15.
Fursenko 122.

Gabbet 226.
Gaffky 218.
Galeotti 121, 285.
Galesescu 325.
Gasis 231, 289.
Gaylord 27, 64.
van Gehuchten 297.
v. Georgiewics 88.
Giacomi 232.
Gierke 33.
v. Gierke 88.
Giemsa 211, 237, 238, 239, 243, 244, 253, 256, 260, 261, 265, 268, 270, 284.
van Gieson 112, 127, 163, 236, 237, 275, 276, 277, 279, 281, 284, 285, 293, 319.
Gierlich 303.
Gill, Mc 134.
Gmelin 181.
Goetsch 343.
Golgi 100, 314.
Golodetz 159.
Gonder 239.
Gothard 298.
Gotschlich 219.
Gram 206, 211, 230, 235, 236, 275, 348.
Grenacher 107, 237.
Grünwald 211, 239, 264, 265.
Guarnieri 245.
Günther 207, 242.
Gulland 254, 267.

Hall 179.
Halliburton 317, 319.
Hamm 213.
Hansen 105, 113, 232.
Harris 68.
Hart 140.
Haserodt 224.
Hatano 229.
Haug 52, 53, 303.
Hauser 219.

Hayem 251.
Heidenhain 66, 88, 117, 118, 136, 279, 282, 285, 348.
Heilmayer 303.
Heineke 266.
Held 298, 327.
Heller 305.
Helly 41, 71.
Hempel 224.
Henke (Zeller) 39, 67.
Hermann 43, 116, 226, 237.
Herxheimer, G. 149, 303.
Herxheimer, K. 138, 174, 198, 239, 348.
Hill 214.
Hinterberger 215.
Hirschberg 251.
Hirschfeld 166, 230, 234.
Hoffmann 239.
Hoffmann-Pacini 273.
Holmgren 124.
Honegger 109.
Hoppe 326.
Hornowski 141.
Hoyer 160.
Hübner 239.
Hüne 224.
Hueppe 212.
Hunt 216.
Hüter 132, 200, 284.

Israel 117.

Jäger 237.
v. Jagić 282.
Jakobson 224.
Jenner 211, 254, 259.
Joachim 280.
Jochmann 224.
Johne 213, 218, 220.
Joesten 347.
Jores 45, 142.
Joris 313.
Jürgens 165.
Justus 187.

Kaiser 303.
Kaiserling 7, 45, 46.
Kantorowicz 167.
Kaplan 309.
Kasarinoff 156.
Kató 312.
Kaufmann 98.
Kawamura 159.
van Ketel 224.
Kitasato (Yersin) 219.
Klaatsch 336.
Klein 212.
Kleinenberg 44.
Klett 213.
Klingmüller 42.
Knauer 15.
Knecht 88.
Kniejaskow 25
Knoll 229.
Kobert 280, 346.
Koch 204, 233 -(Ehrlich) 225, 227 -(Weeks) 218.
Kockel 195.
Kodis 298.
Kohn 290.
Kokubo 279.
Kolster 279.
Kolossow 349.
v. Kölliker 339.
Kopsch 124, 315.
v. Kossa 185.
Kossel 219.
Krause 326.
Kronthal 315.
Kromayer 348.
Kruse 219.
Kultschitzky 156, 303, 309 (Wolters) 301, 333.
Kühne 205, 222, 228.
v. Kupffer 283, 284.

Lagrèze 224.
Landsteiner 147.
Lang 217.
Lange 224, 317.
Langerhans 285.
Langhans 78, 168, 169.
Langley 320.
Laporte 268.
Laue 285.
Laveran 237, 243.
Lee (Mayer) 38.
Leishman 211, 237, 243, 254, 261, 265, 268.
Lenhossék 297, 299.
Lentz 244, 245.
Leutert 184.
Levinson 151.
Levaditi 100, 182, 211, 234, 241, 245.
Leyden 278.

Liebermann 93.
Lipskerow 221.
Ljubinsky 221.
Loele 135.
Loewenstein 134.
Loewit 99, 318.
Löffler 204, 205, 208, 209, 211, 214, 215, 217, 218, 219, 220, 221, 233, 240.
Lorrain-Smith 153, 156, 157, 158.
Low 298.
Lubarsch 37, 67, 167, 170, 172, 194.
Lugaro 313.
Luithlen 298.
Lustgarten 231, 232.

Maier 78.
Mall 24, 137.
Mallory 133, 134, 198, 200, 228, 275, 277, 281, 282, 284, 285, 307, 326, 348.
Manchot 138.
Mann 34, 36, 41, 89, 100, 104, 245, 308.
Manson 243, 268.
Marchi 43, 151, 291, 317, 318, 319.
Maresch 127.
Martin 68.
Martinotti 138.
Maurer 243.
May-Grünwald 211, 239, 259, 264, 265.
May 330.
Mayer, P. 38, 53, 56, 57, 66, 72, 103, 106, 107, 114, 116, 126, 140, 161, 172.
Mayer, S. 318.
Melnikow-Raswedenkow 45.
Merian 266.
Merkel 44.
Merzbacher 327.
Meyer 303.
Meyer, E. 266.
Mibelli 138.
Michaelis 89, 125, 140, 149, 151, 258.
Michailow 317.
Minervini 140.
Minot 161.
Moeller 212, 231.
Mönckeberg 331.
Moore 345.
Moser 273.
Mosse 305.
Mott 317, 319.
Much 228.
Müller 39, 55, 290, 291, 301, 314, 319.
Muir 213.
Mülhäuser 224.
v. Müllern 258.

Nakanishi 202, 250.
Nebel 224.
Neelsen 226, 227, 231.
Negri 244.
Neisser 212, 220.
Neukirch 171.
Neumann 114, 250.
Neumayer 16, 60.
Nicolaier 220.
Nicolle 205, 207, 209, 213, 220.
Nietzki 88, 149.
Nikiforoff 242.
Nissl 147, 291, 296, 326.
Nitsche 224.
Nocht 243.
Noeggerath 239.
Noeske 230.
Noniewicz 222.

Obermeier 242.
Obregia 77.
Oelsner 38.
Olt 31, 78.
Opificius 239.
Oppel 284.
Oppler 175.
Orr 298, 305, 320.
Orth 36, 107, 114, 279, 290, 306, 319.
Ott 220.

Pacini 273.
Pal 302, 307, 309, 320.
Paltauf 195
Pappenheim 89, 125, 142, 202, 211, 217, 232, 250, 254, 262, 263, 265, 298.
Parker 37.
Partsch 53.
Pasini 136, 174, 349.
Pavlow 65.
Perkin 93.
Perls 177.
Perusini 328.
Pecnik 290.
Pfeiffer 210, 218.
Philipp 263.
Pianese 44, 124, 163.
Pick 45.
Pitfield 216, 219, 221.

Platner 332.
Plato 202.
Plien 298.
Plimmer 237.
Poetter 303.
Pommer 336, 337.
Posner 289.
Powell-White 113.
Pranter 140, 143, 210.
Puppe 46, 273.

Quincke 178.

Rabinowitsch 231.
Rabl 44, 297.
Raissini 273.
Ramòn y Cajal 100, 131, 311, 315, 317.
Ranvier 114, 330.
Rawitz 44, 56, 88.
v. Recklinghausen 99, 338, 339.
Rehm 298.
Reich 332.
Revis 345.
Ribbert 131, 200, 207, 213.
Robertson 298, 305, 315.
Rodenwaldt 297.
Roehl 184, 186.
Röthig 140, 343.
Romanowsky 191, 260.
Roncoroni 298.
Rosin 293, 298.
Ross 243, 268.
Rossel 280.
de Rossi 216, 303.
Rossolimo 321.
Rothe 284.
Rubaschkin 78, 313.
Rubinstein 263.
Ruge 263.
Russel 123, 163.

Sahli 308.
Schaffer 51, 319, 320, 336, 343.
Schaudinn 238, 243.
Schmelzer 179.
Schmidt 36.
Schmidt, M. B. 332.
Schmaus (Chillesotti) 306.
Schmorl 31, 40, 74, 78, 84, 141, 152, 166, 185, 208, 209, 216, 217, 218, 220, 222, 234, 273, 282, 288, 290, 337, 340, 341, 342.
Schneider 182.
Schottelius 280.
Schreiber 182.
Schridde 120, 125, 126, 170, 173, 211, 244, 253, 254, 256, 268, 270, 284, 348.
Schrötter 305.
Schultze, W. 121, 266, 270.
Schulz 311.
Schüninoff 197.
Schütz 217, 221, 222, 232.
Sehrwald 315.
Shaw-Bolton 315.
Sharnowsky 195.
Shiga 219.
Silbermann 98.
Siegert 168.
Simarro 313.
Smith 216 (Dietrich) 157, 158.
Sorgo 298.
Spalteholz 98.
Graf Spee 66.
Spengler 224, 227.
Spielmeyer 304, 324.
Spiro 88.
Stangl 290.
Starke 152.
Staehelin 239.
Stäubli 268.
Stephens 215.
Sternberg 244, 271.
Sterzyzowsky 280.
Stieda 178.
Stilling 167.
Stoerk 287.
Storch 326.
Stöltzner 186, 304.
Straehuber 309.
Strasburger 280.
Strasser 74.
Streeter 301.
Ströbe 308.
Stroschein 224.
Studnicka 130.
Stützer 245.

Takajama 346.
Tandler 96.
Tänzer 138, 143.
Teichmann 274, 280.
Teljatnik 319
v. Tellyesniczky 32, 311.
Thiersch 97.
Thoma 52, 53, 114.

Thomas 290.
Tiling 318.
Timofejew 136.
Tirmann (Schmelzer) 179.
Toldt 95.
Touton 217.
Traïna 136.
Trantenroth 232.
Türk 264.

Ugdulena 331.
Uhlenhuth 224.
Ungar 347.
Unna 17, 124, 137, 138, 144, 145, 161, 173, 182, 205, 210, 220, 235, 270, 279, 294, 349 (Pappenheim) 125, 210, 263, 265, 269, 298 (Tänzer) 138, 143 (Ducrey) 210, 219.

Valenti, Luca 216.
Vallard 181.
Vassale 303.
Vastarini 172.
Veiel 42.
Verocay 36, 131, 284, 285.
de Vescovi 9.
Virchow 273.
Volpino 182. 241.

Weeks 218.
Wederhake 347.
Wehrli 229.
Weidenreich 213, 239, 253, 254, 261.
Weigert 62, 74, 77, 82, 87, 104, 114, 138, 141, 142, 144, 155, 166, 185, 188, 192, 196, 211, 230, 234, 269, 275, 276, 282, 284, 291, 293, 299, 305, 309. 320, 322, 348.
Weil 219.
Weiss 229.
Welch 213.
Westenlöffer 45, 46.
Westphal 264.
Wicklein 177.
Wiesel 290.
v. Willebrand 258.
Wimmer 326.
Winkler (Schultze) 266, 270.
Wirths 230.
Witt 88, 94.
Wolkowitsch 218.
Wolters 138.
Wolters 301, 303, 307.
Wooley 134.
Wright 68, 228, 243.

Yamagiva 327.
Yates 93.
Yersin 219.
Yvon 38.

Zalewski 180.
Zeller 39, 67.
Zenker 41.
Zettnow 15, 215.
Ziehl (Neelsen) 226, 227, 228, 231.
Zieler 210, 211, 217, 244, 271, 273.
Ziemann 243.
Zimmermann 339.
Zollikofer 267.

Sachregister.

Abbéscher Beleuchtungsapparat 4. — Zeichenapparat 9.
Abnutzungspigmente 146, 182.
Absoluter Alkohol, wasserfrei zu erhalten 38.
Abstrichpräparate 23, — bei Blutuntersuchung, Herst. und Färbung ders. 252, bei Geisselfärbungen 214, — von Knochenmark 248, — bei entzündlichen Prozessen 191, — bei Spirochätenuntersuchung 238.
Abbots Färbung auf Rotzbazillen 222.
Aceton, als Fixierungsflüssigkeit 39, — als Entwässerungsflüssigkeit bei Paraffineinbettung 67, — Entwässerung dess. 68, — Anw. dess. bei Blutpräparaten 254.
Aceton-Methylenblaugemisch nach Held 298.
Achorion Schönleinii 234.
Achromatische Spindelfigur 114, 116.
Achsenzylinder 305—313, — Darstellung mit van Giesonfärbung 305, — — Hämatoxylinfärbung 307, — — Karmin 306, — — Urankarmin nach Schmaus-Chilesotti 306, — nach Chilesotti 306, — Mallory 307, — Wolters 307, — mit Nigrosin 308, — nach Sahli 308, — Stroebe 308, — Fayersztajn 309, — Kaplan 309, — Strähuber 309, — Imprägnation nach Apathys Goldmethode 313, — — Bethe 313, — — Bielschowsky 310, — — Cohnheim 99, — — Cox 315, — — Donaggio 312, — — Ford Robertson 313, — — Golgi 313, — — Kronthals Bleisulphidimpr. 315, — — Ramón y Cajal 311.
Acidophile Granula 121.
Actinomykose, Färbung des Erregers nach Birch-Hirschfeld 234, — nach Bostroem 234, — nach Weigert 234, — nach Schmorl 234.
Addisonsche Krankheit, Darstellung des Pigmentes 182.
Aether, bei dem Gefrierverfahren 26, — Lösungsmittel für Fett 56, — Anwendung dess. bei Bakterienuntersuchung 202.
Aether-Alkohol, bei Celloidineinbettung 59, 61, — zum Entcelloidinieren 82.
Aetherische Öle, Aufhellung in solchen 81.
Aetzkali-Alkohol zur Differenzierung 308.
Affinitäten der Gewebe zu den verschiedenen Farbstoffen 87.
Agarkulturen bei Geisselfärbungen 214, — Agar, Anw. bei Blutuntersuchung 250.
Akridinrot (Traĭna-Methode) 136.
Alkohol, zur Härtung 37, — Aufbewahrung der Celloidinblöcke in dems. 61, — Anw. für Celloidinschnitte 70, — Härtung injizierter Gewebe in dems. 96, — steigender, Anw. bei Stückdurchfärbung 126, — Verdünnung dess. 39, — wasserfrei zu erhalten 38, — absoluter, Härtung bei Glykogen 168, — — bei Bakterienuntersuchung 202, — zur Fixierung von Blutpräparaten 254.

Alkohol-Ammoniakmischung nach Schridde zur Entfernung von Formalin niederschlägen 35.
Alkohol-Eisessig-Chloroformgemisch nach Carnoy 38.
Alkohol-Karminlösung, Anw. ders. bei Stückdurchfärbung 126.
Alkohol-Formolmischung 38.
Alkohol-Salpetersäure zur Entkalkung 52.
Alkohol-Salpetersäure-Kochsalzlösung zum Entkalken 52.
Alkohol-Salzsäure zum Entkalken 53.
Altmannsches Gemisch 43. — Fixierungsmethode 45, — Granula. Darst. ders. nach Altmann 119, — Modifikation nach Schridde 120. — Darst. ders. bei Weigerts Fibrinmethode 192, — Methode zur Darst. der trüben Schwellung 147.
Alaunhämatoxylin nach Böhmer 103, — nach Delafield 103.
Alaunkarmin nach Grenacher 106, — zur Stückdurchfärbung 127.
Alizarinpaste (Kalkfärbung nach Roehl) 185, — (Herxheimers Fibrinmethode) 198.
Ameisensäure, im Formol 58, — Neutralisation 36, — Zusatz zu Fixierungsflüssigkeiten 46, — Anw. ders. bei Loele 135. — als Entkalkungsflüssigkeit 54, — Chromameisensäure-Fixierung nach Rabl 44. — Chromogen-Ameisensäure-Natriumsulfit-Lösung, zur Reduktion bei Weigerts Neurogliafärbung 323
Ammoniak-Argentum nitricum-Lösung nach Bielschowsky 128.
Ammoniakkarmin, zur Achsenzylinderfärbung 306, — zum Nachweis des Kalkgehaltes des Knochens 335, — nach Honegger 109.
Ammoniakkarminleim nach Frey zur Injektion 97.
Ammoniaklösung als Zusatz bei Hämatoxylinfärbungen 102, bei Fettfärbung 150.
Ammoniakmagnesia, phosphorsaure im Harn 289.
Ammonium, harnsaures im Harn 289, — oxalsaures, Anw. dess. beim Nachweis von Kalk in Geweben 184, — molybdänsaures, Anw. dess. beim Nachweis von phosphorsaurem Kalk nach Roehl 186, — Magnesium-Phosphat. bei Nekrose 189.
Amoeba coli im Darminhalt 281.
Amöben 237.
Amyloiddegeneration 163, — im ungefärbten Präparat 163. — Färbung mit Jod 164, — mit Jodschwefelsäure 165, — mit basischen Anilinfarben 165, — mit Methylviolett nach Birch-Hirschfeld 166, — nach von Gieson 163, — nach Edens 166, — mit polychromem Methylenblau 166, — mit Methylgrün 167, — mit Jodgrün 167, — mit Thionin 167, — Darst. bei der Schleimfärbung 161, — Unterscheidung des Amyloids von Hyalin 163, — Mitfärbung bei der Mallory-Methode 133.
Amyloidleber, zum Einklemmen beim Schneiden von Präparaten 24.
Anaëroben im Blut 268.
Analysatorokulare nach Abbé 7.
α-Naphthol, Anw. dess. bei der Oxydase-Reaktion von Walter Schultze 122.
Angladesche Flüssigkeit 325.
Anilinblau-Orange-Säurefuchsinfärbung nach Mallory 133.
Anilinblau-Safraninfärbung nach Stroebe auf Achsenzylinder 308.
Anilinfarben, Allgemeines zu Färbezwecken 87, 94. — als Kernfärbemittel 108, — bei Bakterienfärbung 204, — bei Fettfärbungen 148, — bei Amyloidfärbungen 165.
Anilinöl, Anw. dess. bei Paraffineinbettung 67, — salzsaures nach Scharnowsky für Fibrin 195.
Anilinwasser, gesättigtes, Darst. dess. 204, — Methylviolett zur Darst. des Keratohyalins nach Herxheimer 174, — Säurefuchsin zur Darst. der

Altmannschen Granula 120, — zur Darst. der Lymphocyten 265, — Fuchsin zur Darst. der Tuberkelbazillen nach Koch-Ehrlich 225, — nach Fränkel 226, — Gentianaviolett zur Bakterienfärbung nach Gram 204, — nach Weigert 192, — Safraninfärbung nach Babes 115.
Anilin-Xylol 192, — bei Weigerts Fibrinmethode 192, — bei Bakterienfärbung 205.
Anreicherungsverfahren für Tuberkelbazillen 224.
Antiforminmethode Uhlenhuths zur Anreicherung von Tuberkelbazillen 224.
Apáthys Gummisyrup 156, — Goldimprägnation 313.
Apochromatische Linsensysteme 5, 12.
Argentum colloidale zur Darstellung der Kupfferschen Sternzellen 285.
Argentum nitricum-Lösung, Anw. ders. bei in Formol überfixierten Stücken 36, — bei Bielschowsky 129.
Arndts Präzisionssäge für Knochenschliffe 338.
Arnolds Verfahren der vitalen Färbung 22, — Darst. von Zellgranula 121, — Jodjodkaliumlösung zur Isolation 24, — Verfahren, frische Blutpräparate länger aufzuheben 250.
Arterien, Darst. der Zellgrenzen der Endothelienzellen 99, — Injektion 96.
Arthropoden 246.
Askanazys Methode zur Darstellung der Osteoblasten und Osteoklasten 338.
Aspergillus, Färbung dess. 234.
Asphaltlack 84.
Assmanns Modifikation der May-Grünwald-Methode 272.
Asthmakristalle im Sputum 278.
Atrophie 146, — braune Atrophie 146, — der Ganglienzellen 147, — der Leberzellen 147.
Aufbewahren von Celloidinblöcken 61.
Aufhellen von Schnitten 79.
Aufkleben von Schnitten 30, 31, — von Paraffinschnitten durch Kapillarattraktion 71, — mittels Glyzerinleim (Mayer) 72, 78. 84, — Kombination der Kapillarattraktion und Eiweissglyzerinmethode 72, 77, 78, — von Serienschnitten 74, — Dextrinzucker-Photoxylinmethode 74, — nach Dimmer 77, — japanische Methode 73, — Methode nach Obregia 77, — nach Langhans, Mayer, Olt, Rubaschkin, von Tellyesniczky, Schmorl, Weigert, 78.
Auge 350, — Conjunctivitis, akute, Färbung des Erregers 218.
Aurantia 94.
Auspinseln und Ausschütteln von Schnittpräparaten 24.
Ausschabungen, Herstellung mikroskopischer Präparate 344.
Ausstrichpräparate, Anlegung ders. bei Bakterienfärbungen 203, — bei Blutuntersuchung 253.
Auswurf, Sedimentierung 225, — Untersuchung auf Epithelien 277, — Fibrin 277, — Fremdkörper 277, — Kristalle 278, — Parasiten 278.
Autochromplatten (Lumière) 12.
Autochtone Pigmente 182.
Azofarbstoffe, Anw. ders. bei Fettfärbung 148.
Azur II-Eosinmethode, Anw. bei Blut und blutbildenden Organen 270.

Babessches Anilinwasser-Safranin zur Darst. von Mitosen 115. — Granula, Färbung ders. 211, — nach Neisser 220, — nach Hunt 221.
Bacillen, Farbreaktionen ders. 204, — Cholerabacillen 233, — Colibacillen 218. — Diphtheriebacillen 220, — Dysenteriebacillen 218, — Gonokokken 210, 216, 217, — Grasbacillen 231, — Hühnercholerabacillen 209, — Influenza-

bacillen 218, — Koch-Weekssche Bacillen der acuten Conjunktivitis 218, — Lebrabacillen 232, — Lustgartensche Bacillen 231, — Maltafieberbacillen 217, — Mäusesepticaemiebacillen 220, — Milzbrandbacillen 213, 220, — Pestbacillen 219, — Phlegmone (emphysematöse) bacillen 220, — Pneumoniebacillen 217, — Proteus 218, — Pseudo-Diphtheriebacillen 220, — Pseudotuberkelbacillen 231, — Rauschbrandbacillen 220, — Rhinosklerombacillen 218, — Rotzbacillen 221, — Schweinerotlaufbacillen 220, — Schweineseuchebacillen 209, — Smegmabacillen 231, — Tetanusbacillen 220, — Tuberkelbacillen 222, — Typhusbacillen 218, — Ulcus molle-Bacillen 219.

Bakterien, Ausstrichpräparate, Anfertigungen ders. 202, — Färbung 204, — entzündungserregende 191, — Grampositive und gramnegative 207, — Granula-Färbung ders. 211.

Bakterienfärbungen 204, — mit Anilinwasser-Gentianaviolett 204, — mit Fuchsin nach Pfeiffer 210. — mit Karbolfuchsin 205, — mit Karbolfuchsinglycerinlösung 206, 212, — mit Karbolthionin 205, — mit Methylviolett 209, — mit polychromem Methylenblau 205, — nach Fränkel 210, — nach Giemsa 239, — nach Gram 206, — nach Gram-Weigert 206, — nach Leishman 261, — nach Löffler 208, 209, — nach May-Grünwald 211, — nach Nicolle 205, — nach Pranter 210, — nach Unna 205, — nach Unna-Pappenheim 211, 263, — nach Zieler 210, — zur Darstellung der Granula 211, — der Geisseln 214, — der Kapseln 213, — der Sporen 212, — Differenzierungsflüssigkeiten zu Färbungen 205.

Bakterienuntersuchung, mikroskopische 201, — in Ausstrichpräparaten 202, 203, — im frischen Präparat 8, 21, — im hängenden Tropfen 202, — im ungefärbten Zustand 202, — in Schnittpräparaten 208, — im Blut 268, — im Harn 288.

Bandwürmer 246.

Barachsche, Färbmethode Dürckscher Fasern 144.

Barberios Spermareaktion 346.

Barfurthsche Glykogenfärbung 169.

Bartels Methode zur Darstellung der Gallenkapillaren 282, — der Neuroglia 325.

Basophile Granula der Myelocyten 255, — Leucocyten 255, — Erythroblasten 256, — γ- und δ-Granulationen, Färbung ders. 264.

v. Baumgarten, Färbung von Leprabacillen 233, — gleichzeitige Färbung von Mitosen und Tuberkelbacillen 118.

Beales Glycerin-Karmin zur Injektion 96, — Karmin zur Blockfärbung 126.

Beitzkes Anreicherung auf Tuberkelbacillen 224.

Beizen bei der Färbung 89.

Belegzellen 121, 279.

Beleuchtung für mikroskopische Untersuchung, künstliche 5, — natürliche 5, — bei Doppelbrechung 8, — bei Dunkelfeldbeleuchtung 8, — beim Photographieren 12.

Beleuchtungsapparat nach Abbé 4.

Bendas Eisenhämatoxylinmethode 116, — Kupferhämatoxylinmethode 116, — Neurogliafärbung 326, — Methode zur Darstellung der Fettgewebenekrosen des Pankreas 285.

Benekes Färbung der Epithelfasern 193, — der Sharpeyschen Fasern 339.

Benzol als Intermedium bei Paraffineinbettung 66.

Benzylbenzoat bei der Durchsichtigmachung von Geweben nach Spalteholz 98.

Berlinerblau-Gelatine nach Thiersch zu Injektionszwecken 97, — Reaktion zum Nachweis von Eisen 177.

Berners Modifikation der Bendaschen Reaktion für Fettgewebsnekrosen 286.
Bertarelli-Volpino-Methode für Spirochäten 241, — Anwendung bei Pigmenten 182.
Bestsche Karminmethode auf Glycogen 170, — Anwendung an Blut und blutbildenden Organen 269, — an Knochen 338.
Bewegungsapparat, mikros. Untersuchung dess. 334.
Bielschowsky-Methode für Achsenzylinder 310, — Anwendung zur Darstellung von Bindegewebe 128, — der Gitterfasern der Leber, des Pankreas 285, — von Kernkörperchen 119, — von Negrischen Körperchen 245, — von Pigment 182, — von Sharpeyschen Fasern 339.
Bielschowsky-Pliens Methode für Ganglienzellen 298.
Bilirubin, Nachweis dess. 181.
Bindegewebe, Darstellung dess. 128, — nach Bielschowsky 128, — nach van Gieson 128, — nach Heidenhain 136, — nach Hüter 132, — nach Loele 135, — nach Loewenstein 134, — nach Mall 137, — nach Mallory 133, — nach Ribbert 131, — nach Timofejew 136, — nach Traina 136, — nach Unna 137, — nach Verocay 131, — nach Wooley 134.
Bindegewebsfibrillen und elastische Fasern, gleichzeitige Darstellung derselben 142.
Biondi-Ehrlich-Heidenhains Methode 117.
Birch-Hirschfeldsche Methode zur Darstellung des Aktinomyces 230, — des Amyloids 166.
Bismarckbraun 95, — als Bakterienfärbemittel 204, — zur Stückdurchfärbung 126.
Blasensteine 288.
Blastomyceten 233, 236.
Bleichen von Pigmenten 56, 183.
Blei, Nachweis dess. im mikroskop. Präparate 187.
Bleiniederschläge in Geweben, Darstellung ders. 183.
Bleisulfidimprägnation nach Kronthal 315.
Blendensystem, zur Regulierung der Lichtintensitäten 4, — bei Bakterienuntersuchung 201, — bei Fettuntersuchung 148, — bei Dunkelfeldbeleuchtung 8.
Blut und blutbildende Organe, Herstellung von Präparaten 247, — Bakterien 268, — Entnahme des Materials 247, — Untersuchung im frischen Präparat 249, — im Deckglastrockenpräparat 252, — Herstellung ders. 252, — Fixation dess. 253, — Färbung der Ausstriche 257, — Untersuchung dess. auf Spirochaeten 239, — Zellformen und Charakteristica ders. 255, — Lymphocyten und ihre Vorstufen 255, — Leukocyten und ihre Vorstufen 255, — rote Blutkörperchen 256, — Knochenmarksriesenzellen 256, — Anfertigung von Schnittpräparaten: Übersichtsbilder 257, — Konservierung ders. 250, — Färbung ders. nach Ehrlich 262, — nach Giemsa 260, — nach Leishman 261, — nach May-Grünwald 259, — nach Pappenheim 262, — nach Romanowsky 260, — nach Unna-Pappenheims Pyronin-Methylgrünmethode 263, — mit Hämatoxylin-Eosin 257, — mit Methylenblau 266, — mit Methylenblau-Eosin 258, — spezielle Granulafärbungen 263, — Färbung auf besondere Bestandteile 267, — Glykogen 267, — Fett 267, — Parasiten 268.
Blutextravasate, Anfertigung mikroskop. Präparate von solchen 275.
Blutfarbstoff, Nachweis dess. zu forensischen Zwecken 274.
Blutgefässe 275, — Darstellung der Endothelgrenzen mittels Imprägnation 99, — künstliche Injektion 96.
Blutkörperchen s. Blut.
Blutkristalle, Nachw. ders. 250.
Blutlaugensalz, Anwendung bei der Eisenreaktion 177.

Blutlaugensalz-Boraxlösung nach Weigert 300.
Blutparasiten, Färbung ders. nach Giemsa 261.
Blutpigmente, Nachw. ders. 176.
Blutplättchen 267, Darstellung ders. nach Giemsa 267, — nach May-Grünwald 260, — nach Romanowsky 260, — Fixierung ders. nach Deetjen 251.
Blutserum als Zusatzflüssigkeit zu frischen Blutpräparaten 251.
Blutspuren, Untersuchung ders. zu gerichtlichen Zwecken 273, — nach Schmorl 273, — nach Teichmann 274, — Mazerationsflüssigkeit bei denselben 273.
Boassche Fettfärbung mittels Chlorophyll 153.
Boecksche Methode zur Untersuchung von Hautpilzen 235.
Boehms Methode für Gallenkapillaren 283, — für Kupffersche Gitterfasern 284.
Boehmers Alaunhämatoxylin zu Kernfärbungen 103.
Bohners Methode zur Darstellung der Negrischen Körperchen 245.
Bonneys Modifikation der Flemmingschen 3-Farbenmethode 113.
Borax-Ferricyankaliumgemisch nach Weigert, Herstellung dess. 196, — zur Entfärbung bei der Levaditi-Färbung 242, — bei Fischlers Färbemethode der fettähnlichen Körper 155, — bei der Darstellung der Gallenkapillaren 283.
Boraxkarmin nach Grenacher zur Kernfärbung 107.
Boraxmethylenblau, Anwendung dess. bei Färbung auf Hautpilze 235, — auf Bacterium alceris cancrosi 219, — nach Manson 243, — — nach Unna 235, — — nach Boeck 235, — zur Sporenfärbung der Pestbazillen 219.
Boraxmethylenblau-Bromeosingemisch Löfflers 217.
Bordeauxrot, Anw. dess. bei Centrosomenfärbung nach Heidenhain 118.
Bostroems Färbemethode für den Actinomycespilz 234.
Braune Atrophie 146, 182.
Brazilin 93.
Bromeosin, zur Bakterienfärbung 217.
Bronchien, mikroskop. Untersuchung ders. 276.
Brütofen 14.
Bungesche Flüssigkeit, Herstellung ders. 180, — und Trautenrothsche Färbung zur Unterscheidung des Tuberkelbacillus vom Smegmabacillus 232, — Modifikation der Löfflerschen Geisselfärbung 214.
Burris Tuscheverfahren auf Spirochaeten 240.
Busch und Rossolimos Nachweis der Körnchenzellen im Zentralnervensystem 321.
Busses Methode zur Darst. von Hefepilzen 236.
Butterfieldsche Methode 266.
Buzzis Färbung auf Eleïdin 175.

Callums, Mc. Nachweis von Phosphor und Kalium in Geweben 187.
Carbol-Xylol, 81.
Carmin siehe unter K.
Carnoysches Gemisch 38.
Celloidin-Dextrinzuckerlösung zum Aufkleben von Schnitten 77.
Celloidineinbettung: Herstellung der Celloidinlösungen 59, — Montage auf Holzblöcke und Beschaffenheit der letzteren 60, — auf Stabilit 61, — Aufbewahrung der Blöcke 61, — Celloidin-Schnellmethoden 62, — Schneiden der Celloidinblöcke 70, — Serienschnitte 74, — Aufkleben auf Objektträger 76, — Weiterbehandlung 81, — Entfernung des Celloidins aus den Schnitten und Färben ders. 82.
Celloidin-Paraffineinbettung 68.
Cellulose pflanzliche 165.
Centrifuge 14.

Cerebroside 154.
Charcot-Leydensche Kristalle im Sputum 278.
Charcot-Neumannsche Blutkristalle 250.
Chenzinski-Lösung 258.
Chitin, Nachweis dess. 246.
Chilesotti u. Schmaus' Färbung der Achsenzylinder 306.
Chlor als Bleichmittel bei Entpigmentierung 56, 183.
Chloroform, Anwendung dess. bei Entfettung 56, — bei Bakterienuntersuchung 202, — bei Paraffineinbettung 65.
Chloroform-Paraffin 66.
Chlorophyllösung, Anwendung ders. bei der Fettfärbemethode nach Boas 153.
Chlorzink, Anw. dess. bei Spirochaeten-Färbung 240.
Choleravibrionen 233, — Darstellung der Vibrionen in Fäzes 280.
Cholesterin-Fettsäuregemische 154, 157, 159, — Glyzerinestergemische, Darst. ders. 157, -- Färbung ders. nach Smith-Dietrich 157, — nach Golodetz 159.
Cholesterinesterverfettung 158.
Chondriokonten, Darst. ders. nach Freifeld 266.
Chromaffine Zellen, Darst. ders. nach Kohn und Wiesel 290. -- nach Schmorl 290.
Chromameisensäure zur Fixierung nach Rabl 44.
Chromatin, Darst. dess. nach Heidenhain 118, — nach Bielschowsky 130, — bei Weigerts Fibrinmethode 195.
Chromkalium-Essigsäure-Kupferbeize nach Weigert 300.
Chromogen-Ameisensäure-Natriumsulfit-Lösung zur Reduktion bei der Weigertschen Neurogliafärbung 323.
Chromophore Gruppen 94.
Chromosmium-Essigsäuremischung nach Flemming 43.
Chromosomen bei Mitosen, Darst. ders. 116.
Chromreaktion der Nebennieren 290
Chromsäure als Fixierungsmittel 39, — als Mazerationsflüssigkeit 23, — bei der Kockelschen Fibrinmethode 195.
Chromsäuregemische zur Fixierung von Geweben 39, — zur Entkalkung 54, — nach Rabl 44.
Chromschwefelsäure zum Reinigen gebrauchter Deckgläser und Objektträger 15.
Coccidien, Untersuchung ders. 242.
Cochenille, Anw. ders. bei der Glykogenfärbung 170.
Cohnheims Goldimprägnation 99.
Colibazillus 218, — im Blut 268.
Colloid, Darst dess. 162.
Congorot zur Färbung auf Eleïdin 175.
Conjunctivitis acuta, Färbung des Erregers ders. 218.
Conkys Mc. Bakterienkapsel-Färbung 213.
Corallin, Anw. dess. bei der Pappenheimschen Färbung 232.
Cornetsche Pinzette 17, — Anw. ders. bei Bakterienfärbung 203.
Corpora amylacea 168.
Corpora flava und versicolorata Siegerts Darst. ders. 168.
Courmont et Andrés Methode für Harnsäure und Purinkörper 187.
Cuprum aceticum nach Weigert 300.
Cuprum sulfuricum, Anw., um Alkohol wasserfrei zu halten 38.
Curschmannsche Spiralen im Sputum 278.

Cystin im Harn 289.
Cytoplasma, Darst. dess. nach Galeotti 121.
Czaplewskis Färbung der Tuberkelbazillen 227, — Karbolfuchsin-Glyzerinlösung bei Bakterienfärbungen 206.

Dahlia, Anwendung für basophile Granulationen nach Westphal 264, — nach Ehrlich 126, — nach Ribbert zur Darstellung von Bakterienkapseln 213.
Dantschakoffs Anilinöl-Nelkenöl 78.
Darm 279.
Darminhalt 279, — Würmer 246, — Darmparasiten 281.
Deckgläschen 15, — Reinigung gebrauchter 15, — fettfreie bei Geisselfärbung 214.
Deckglastrockenpräparate, Herstellung zur Bakterienuntersuchung 202 f, — bei Blutuntersuchung 252, — Fixierung ders. 254, — feuchter Präparate 254, — nach Weidenreich 254, — gleichzeitige Fixierung und Färbung 254, — auf besondere Elemente 267, — auf spezielle Granula 263, — Übersichtsbilder 257, — bei Sporenfärbung 212.
Deetjens Methode für amöboide Bewegung der Leukocyten etc. 250.
Degeneration, amyloide 163, — hyaline 162, — fettige 148, — glykogene 168, schleimige 159, — Darstellung der Degenerationen des Nervensystems nach Marchi 318, — nach Schaffer 320, — nach Benda 320, — nach Donaggio 320.
Degenerationsphasen des Kerns, Verwechslung ders. mit Mitosen 115.
Delafieldsches Alaunhämatoxylin zur Kernfärbung 103, — Anwendung bei Verocays Bindegewebsfärbung 131.
Delépinesche Glykogenfärbung 169.
Demodex folliculorum 246.
Dextrinzucker zum Aufkleben 74.
Dextrose bei der Muskelglykogenfärbung nach Neukirch 171.
Differenzierungsflüssigkeiten 90, — Auswaschen ders. 93, — bei Bakterienfärbungen 205.
Diffusionsströme 29.
Dimethyl-p-Phenylendiamin, bei der Oxydase-Reaktion von W. Schultze 122.
Dimmers Verfahren, Celloidinschnitte aufzukleben 76.
Diphtheriebazillus, Darst. ders. 220, — im Blut 268.
Diplococcus pneumoniae, Färbung 216.
Doppelbrechung 7, 8, — Anwendung ders. zur Untersuchung von Fett und fettähnlichen Körpern 154, 158.
Doppelchromsaure Salze zur Fixierung 39, — zur Mazeration 23.
Doppelfärbungen 110—118.
Doppelmesser 13.
Doppelsäge, zur Anfertigung von Knochenschnitten 338.
Dragendorfs Mazerationsflüssigkeit zur Unterscheidung von Blut 273.
Dreifarbenmethode nach Ehrlich-Biondi-Heidenhain 117, — nach Mallory 133.
Driessens Glykogenfärbung 170.
Dreysel und Opplersche Färbung auf Eleïdin 175.
Ducrey-Unnas Ulcus-Molle-Bazillus, Färbung dess. 219.
Dunkelfeldbeleuchtung 8, — bei Bakterienuntersuchung 202, — bei Spirochaeten 238.

Durchsichtigmachen von menschlichen und tierischen Präparaten nach Spalteholz 98.
Dürcksche Fasern, Darst. ders. 144.
Durhams Gemisch zur Fixierung von Blutpräparaten 254.
Dysenterieamöben, Darst. ders. 237.

Ebnersche Entkalkungsflüssigkeit 53. — Methode zur Darstellung der Sharpeyschen Fasern 339.
Echinokokken 246.
Edens Amyloidreaktion 166.
Edingers Zeichenapparat 9.
Ehrlich-Biondi-Heidenhains Methode 117, — Anwendung für Horn 173, — für Schleim 160.
Ehrlichs Dahlialösung 264, — Hämatoxylin zur Kernfärbung 103, — Dreifarbglyceringemisch 263, — Jodreaktion auf Glykogen 169, — Jodgummilösung zum Nachweis von Glykogen in Leukocyten 251, — Mastzellenfärbung 126, — Triacidgemisch 262, 265, 270, — Anw. dess. bei der Darstellung von Kernkörperchen 119, — von Granula 263, 265.
Eier, Nachweis ders. im Darminhalt 281.
Einbettung mikroskop. Präparate 57, 68, — in Celloidin 59, — in Celloidinparaffin 68, — in Paraffin 63, — in Photoxylin 62, — Schnelleinbettung in Celloidin 62, — kleiner in Flüssigkeit enthaltener Gewebeteile 344.
Einbettungsrähmchen 64.
Einschliessen von Schnitten 79.
Eisen, Anw. dess. als Beize bei Hämatoxylinfärbung 104, — Nachweis dess. in Geweben 177, — Berlinerblaureaktion nach Perls 177, — Nachw. mit Schwefelammonium 178—180, — nach Stieda 178, nach Hall 179, nach Quincke 178, nach Tirmann u. Schmelzer 179, nach Zalewski 180, nach Mc. Callum 180, nach Vallard 181, — maskiertes, Darst. dess. 180
Eisenalaunlösung als Differenzierungsflüssigkeit 118.
Eisenchlorid, Anw. dess. bei Mallorys Fibrinfärbung 198, — nach Mayer 140, — bei Weigerts Elast. Fasern-Färbung.
Eisengallustinte, Anw. ders. bei Glykogenfärbung nach Mayer 172.
Eisenhämatoxylin, nach Weigert 104, — nach Benda 104, — nach Hansen 105, — nach Heidenhain 118, — zur Markscheidenfärbung 300.
Eisenhaltige Pigmente, Nachweis 176.
Eisenoxydsulfat, als Beize bei der Darst. von Mitosen 116.
Eisenvitriol, Anw. dess. bei der Darst. des Keratohyalins 173.
Eiterkokken im Blut 268.
Eiweissglyceringemisch, Anw. dess. zum Aufkleben von Celloidinschnitten 77, von Paraffinschnitten 84, — Herst. ders. 31.
Elacin, Darst. dess. nach Unna 144.
Elastische Fasern, Darst. ders. im frischen Präparat 19, — nach Weigert 138, — Anw. der Methode bei Blut und blutbildenden Organen 269,— bei Herzpräparaten 275, — bei Sputum 278, — nach Harts Modifikation der Weigertschen Methode 140, — nach Unna-Tänzer 143, — nach Fränkels Modifikation 143, — nach Mallory 133, — nach der Markscheidenmethode Weigerts mit gleichzeitiger Färbung der Dürckschen Fasern 144, — gleichzeitige Färbung von elastischen Fasern und Tuberkelbazillen 141, — — und Bakterien 141, — — und Bindegewebe 142, — — und Elacin 145, — — und Fett 142, — — und Fibrin 141, — Mitfärbung von Schleim 160.
Eleïdin, Darst. dess. nach Buzzi 175, — nach Dreysel und Oppler 175.

Embolie 190.
Endothelgrenzen von Gefässen, Darst. ders. 100.
Entalkoholisierung von Gewebsstücken 63.
Entcelloidinierung von Schnitten 82.
Entfettung mikroskop. Präparate 56.
Entkalkung mikroskop. Präparate 50, — von Celloidinblöcken 55, — in Ameisensäure 54, — in Chromsäuregemischen 54, — in Ebnerscher Flüssigkeit 53, — in Flemmingscher Lösung 55, — in Müllerscher Flüssigkeit 55, — in Phloroglucinlösung 52, — in Haugschem Gemisch 52, — in Pikrinsäure 54, — in Salpetersäure und -Gemischen 52, — alkoholischer nach Mayer 53, — in Salzsäure 53, — in schwefliger Säure 51, — in Thomascher Lösung 53, — in Trichloressigsäure 53, 55.
Entparaffinieren von Schnitten 84.
Entpigmentieren 56.
Entwässern 81.
Entzündungen 190.
Eosin 94, — Hämatoxylin-Eosin zur Kernplasmafärbung 111, — Färbung auf Kolloid 162.
Eosinglycerin zur Färbung von Granula 264.
Eosin-Methylenblaugemisch zur Blutfärbung 258, — nach May-Grünwald 259, — nach von Müllern 258.
Eosinophile Granula 263, — Färbung nach May-Grünwald 264. — Unterschied ders. von pseudoeosinophilen Granula 264.
Eosinsilberplatten 12.
Epidermis 347.
Epiphyse, Untersuchung ders. 332.
Epithelfasern, Darstellung nach Kromayer 348, — nach Unna 349.
Epithelien secernierende, Darst. ihrer Granula nach Galeotti 121.
Epithelkörperchen 277.
Eppingers Methode, zur Darstellung der Gallenkapillaren 282.
Erlickysche Flüssigkeit 40.
van Ermengem, s. Geisselfärbung 215.
Ernsts Differentialdiagnostische Färbung von Harn 173, — Radspeichenbau peripherer Nerven, Darst. ders. 331.
Erysipelkokken, 216.
Erythrasma, Erreger dess. 234.
Erythroblasten, basophile 256, — hämoglobinhaltige 256, — Darst. der Kerne 259.
Erythrocyten 256, — Zerstörung ders. durch Essigsäure 268 s. auch Blut.
Erythrosin 94, Anwend. dess. bei der Loeleschen Bindegewebsfärbung 135, — zur Färbung der Ganglienzellen nach Held 298.
Esbachsches Reagens, Anwendung ders. bei Tuberkelbacillenfärbung nach Spengler 227.
Essigsäure, Bleichung der Erythrocyten 268, — bei der Bielschowsky-Methode 129, — Anwendung ders. bei frischen Präparaten 19, — bei Pseudomucinen 159, — bei trüber Schwellung 147, — bei Bakterienuntersuchung 201, — als Differenzzierungsmittel bei Bakterienfärbung 205, — bei Untersuchung auf Pilze 233, — Zusatz zum Formol nach Tellyesniczky 36, — nach Kockel zur Vermeidung der Färbung der roten Blutkörperchen 196, — zum Zerstören der roten Blutkörperchen 268.
Essigsäure-Kupfer-Chrombeize nach Weigert 300.
Exsikkator nach Oelsner 38.

Fadenpilze, Färbung ders 233.
Fäces, Untersuchung auf Parasiten 280.
Färbetechnik, Theorie ders. 88.
Färbung, adjectivische 89, — substantivische 89, — allgemeiner Zellbestandteile 101 — Affinität der Gewebselemente zu den verschiedenen Farbstoffen 91, — Beschleunigung 93, — Beizwirkung bei ders. 89, — Differenzierungsflüssigkeiten 90, — Differenzielle F. 89, — diffuse F. 89, — direkte 89, — indirekte 89, — Kernfärbung 101, — Metachromasie 91, — ganzer Stücke 92, — Metallimprägnation 99, — mikrochemische Reaktion ders. 87, — progressive 90, — regressive 90, — Steigerung der Färbekraft 93, — vitale und supravitale F. 21, 92, — Zweck ders. 87.
Fäulnis, postmortale 189.
Farbstoffe 93.
Farrantsche Lösung zur Untersuchung von Würmern 246.
Fasern, elastische, s. unter E.
Favuserreger, Darst. ders. 234.
Ferrichloridlösung, Anw. ders. bei Weigerts elastischer Fasernfärbung 140.
Ferricyankalium-Boraxlösung nach Weigert 300.
Ferrocyankalium, Anw. bei der Berlinerblaureaktion 177.
Fettähnliche Körper 154, — Untersuchung ders. mit dem Polarisationsmikroskop 154.
Fettembolie 148, 190.
Fettfarbstift 17.
Fettfärbung mit Anilinfarben (Azofarben: Sudan III, Scharlach R) 149, — mit Chlorophyll nach Boas 153, — und elastische Fasern-Färbung 142, — mit Flemmingschem Gemisch 151, — nach Herxheimer 149, — bei Herzpräparaten 275, — mit Indophenol 151, — Kernfärbung bei ders. 150, — in Leucocyten 251, — Marchischer Lösung 151, — Osmiumsäure 151, — Scharlach R und Osmiumsäure zur Darstellung des Fettes im Blut 269, — nach Lorrain-Smith mit Nilblausulfat 153, — Combiniert mit Eisenfärbung nach Vallard 181.
Fettgewebsnekrosen des Pankreas, Darst. ders. nach Benda 285, — nach Berner an Paraffinschnitten 286.
Fettinfiltration und Degeneration 148.
Fettkörnchenzellen, Nachweis ders. im Nervensystem nach Busch und Rossolimo 321.
Fettpigmente, Darst. ders. nach Ciaccio 147.
Fettponceau, Anw. dess. 149, 157.
Fettsäuren, Färbung ders. nach Fischler 154, 157.
Fettsaurer Kalk, Nachweis dess. 155.
Fettseifen 157.
Fibrin, Darstellung dess. nach Fränkel 198, — nach van Gieson 112, — nach K. Herxheimer 198,— nach Kockel 195, — nach Loewenstein 135, — nach Mallory 134, 198, — nach Schüninoff 197, — nach Weigert 192
Fick (K. Herxheimer) Methode zur Darst. des Keratohyalins 174.
Fields Einbettungsmethode 68.
Filaria sanguinis 268.
Fischer, elastische Fasern- und Fettfärbung 142, — Injektionsverfahren 98, — Anw. der May-Grünwaldmethode am Schnitt 272.
Fischlers differentialdiagnostische Färbung zwischen Fettsäuren und fettsaurem Kalk 154, 158.
Fishs Formolalkohol 37.

Fixiernatron, bei Metallimprägnationen 100, — bei der Bielschowsky-methode 130.
Fixierung (und Härtung) 32, — von Blutpräparaten 253, — mit Formoldämpfen 254, — nach Weidenreich 254, — Kochmethode 45, — makroskopischer Präparate zu Sammelzwecken 45, — von Mitosen 115.
Fixierungsmittel, — Aceton 39, — Alkohol 37, — Alkohol-Eisessig-Chloroform (Carnoysches Gemisch) 38, — Chromsäure 39, — Chromameisensäure 44, — Doppelchromsaure Salze 39, — Erlickysche Flüssigkeit 40, — Formalin 34, 37, — Formol-Alkohol 37, — Formol-Essigsäure 36, — Formalin-Glyzerin-methode nach Kaiserling 46, — Formalin-Müllerlösung 36, — Formalin-Quecksilberoxyd nach Westenhöffer 46, — Hellys Gemisch 41, — Merkelsches Gemisch 44, — Müllersche Flüssigkeit 39, — Orthsches Gemisch 36, — Osmiumsäure 42, — Osmiumsäuregemische 42, — — nach Altmann 43, — — Flemming 43, — — Hermann 43, — — Marchi 43, — Pikrinsäure 44, — Pikrinschwefelsäure 44, — Sublamin nach Klingmüller und Veiel 42, — Sublimatgemische 40, — Sublimat-Eisessig 41, — Sublimat-Kochsalzlösung 40, — Zenkersche Lösung 41, — Trichloressigsäure 74, — nach Wolters 307.
Flagellaten s. a. 236.
Fleischvergiftung, Darst. des Erregers ders. 218.
Flemmingsches Gemisch 43, — zum Fixieren 43, — zum Entkalken 55, — zum Fettnachweis 151, — zur Darstellung von Mitosen 115.
Florencesche Reaktion auf Sperma 346.
Floyds Formolalkohol 37.
Flüssigkeiten, Untersuchung ders. 2, — indifferente, zur Untersuchung frischer Gewebe 19, — Untersuchung auf Bakterien 201, — auf Parasiten 246, — Punktionsflüssigkeiten 334.
Fluorchrom-Essigsäure-Kupferbeize Weigerts 300.
Fluorchrom-Kaliumbichromat-Gemisch nach Weigert 300.
Fluorescein als Differenzierungsflüssigkeit bei Bakterienfärbung 205, — nach Czaplewski für Tuberkelbazillen 227.
Ford Robertsons Imprägnation der Mesoglia 328.
Formolalkohol 37.
Formol-Fixierung 29, 34, — Behandlung überfixierter Gewebe 36, — Beseitigung dabei auftretender Niederschläge 35.
Formolagar nach Bolton und Harris 68.
Formolalkohol 37.
Formoldämpfe zur Fixierung von Blutpräparaten 254.
Formolessigsäure nach Ruge zur Fixierung von Malariaplasmodien 243.
Formolgelatine, Einbettungsverfahren nach Wright 68.
Formol-Kaliumbichromatgemisch nach Wiesel 290.
Formol-Müllerlösung nach Orth 36.
Formolniederschläge, Beseitigung ders. 35.
Formol-Pyrogallol zur Reduktion bei Silberimprägnation 311.
Formolsalpetersäuregemisch zur Entkalkung 52.
Formolsalzgemisch nach Kaiserling zur Konservierung anatom. Präparate 46.
Foxsche Flüssigkeit 325.
Fränkel, B., Tuberkelbazillenfärbung 226.
Fränkel, C., Gonokokkenfärbung 217, — Meningokokkenfärbung 216.
Fränkel, E., Bakterienfärbung in Schnittpräparaten 210, — Markscheidenfärbung 304, — Modifikation der Unna-Tänzer-Methode 143.
Fränkel-Weichselbaums Pneumococcus 216.

Freifelds Chondriokonten-Darstellung 266.
Freuds Nervenfasernimprägnation 313.
Freys Karminleimmasse zu Injektionszwecken 97.
Friedrich und Noeskes Färbung von Tuberkelbazillen von Streptothrixform 230.
Friedländers Bakterienkapselfärbung 213, — Pneumoniebazillus, Färbung dess. 218.
Frische Präparate 18, — Ausstrichpräparate 21, — Mazerationsflüssigkeiten 23, — Schnittpräparate, Herstellung ders. 24, — Ausschütteln und Auspinseln 24, — Verdauung, künstliche 24, — Zupfpräparate 23, — chemische Reagentien 19.
Fuchselin 140.
Fuchsin, als Kernfärbemittel 108, — als Bakterienfärbemittel 204, — nach Pfeiffer 210, — zur Färbung der Aspergillen 235.
Fuchsinkörper nach Russel, Darst. ders. 123.
Funkes Reinigungsmethode gebrauchter Deckgläschen 15.
Fursenkos, Herstellung von Dauerpräparaten bei der Oxydasereaktion nach W. Schultze 122.

Gabbets Tuberkelbazillenfärbung 226.
Galeottis Methode für Granula secernierender Zellen 121, — für das Pankreas 285.
Galesescusche Modifikation der Weigertschen Neurogliamethode 325.
Gallenkapillaren, Darstellung nach Bartels 282, — nach Böhm 283, — nach Eppinger 282, — nach Heidenhain 282, — nach Mallory 282, — nach Schüninoff 197, — nach Weigerts Neurogliamethode 282, — durch Injektion 283.
Gallenpigmente, Darst. ders. 181, — nach Gmelin 181.
Ganglienzellen 294, — Färbung nach Nissls Methode 294, — Bielschowsky-Plien 298, — Held 298, — Lenhossék 297, — Rosin 298.
Gasbacillus, Fränkels im Blut 268.
Gasis Methode zur Unterscheidung der Tuberkel- von den Smegmabazillen 231, — bei Harnuntersuchung 289.
Gaylords Einbettungsrahmen 64.
Gebrochenes, Untersuchung dess. 279.
Gefässe, Endothelgrenzen-Darstellung 99, — Injektion 96, — Thromben 190.
Gefriermikrotom, Konstruktion dess., Anw. etc. 14.
Gefrierschnitte, Behandlung ders. 79, — Anfertigung von fetthaltigem Gewebe 31, fixiertem Material 29, frischen Objekten 28, — Aufkleben auf Objektträger 30.
Gefrierverfahren 25—31, mittels Äther 26, — Äthylchlorid 27, — Kohlensäure 28, — Anw. bei Celloidinpräparaten 61.
Gehirn, s. Zentralnervensystem 291—333.
Geisselfäden der Bakterien, Untersuchung ders. nach Bunge 214, — van Ermengem 215, — Hinterberger 215, — Löffler 214, — Stephens 215, — Zettnow 215, — bei Spirochäten 238.
Gelatineblock, Herstellung dess. 68.
Gelatine, Aufkleben von Celloidinschnitten 76, — Injektion nach Tandler 96.
Gelenke, mikroskop. Untersuchung ders. 343.
Gentianaviolett 95, — zur Kernfärbung 108.
Gentianaviolett (Methylviolett), — Anilinwasser nach Weigert zur Fibrinfärbung 192, — zur Bakterienfärbung 204.
Gerbsäure, Anwendung nach Nicolle bei Bakterienfärbung 209, — Entfernung aus Holzklötzchen 61, — Anwendung bei der Silbermethode van Ermengems 215.

Geschlechtsorgane, männliche, mikroskop. Untersuchung ders. 345, — weibliche, mikroskop. Untersuchung ders. 344.
Geschwülste 190, 199, — Einbettung in Flüssigkeiten enthaltener Teilchen 344, — Nachweis im Sputum 277, — Schnelleinbettung 344, — Zupfpräparate 199.
Gewebsstücke, Aufhebung bezw. Einsendung ders. zu mikroskop. Untersuchung an Institute 46.
Giemsafärbung 260, 261, — Anwendung für Bakterien 205, — Blutparasiten 268, — Blutplättchen 267, — nach Pappenheim 262, — für Erythrocyten 256, — Kala-Azarkörperchen 244, — Kupffersche Gitterfasern 284, — Granulafärbungen 265, — Malariaplasmodien 243, — Negrische Körperchen 245, — Hefepilze 235, — Plasmazellenfärbung 266. — Protozoen 236, — Trypanosomen 237, — Spirochaete pallida 238—39, — Schnittpräparate nach Schmorl 241, — für Schnittpräparate bei Blutuntersuchung 270, Modifikation nach Schridde 270, — nach Sternberg 271.
Giemsalösung-Glycerin-Malachitgrün nach Löffler zur Färbung der Spirochaete pallida in Ausstrichpräparaten 240.
Gierkes Methode zur Entfernung von Formolniederschlägen aus Geweben 35.
Gierlich-Herxheimers Markscheidenfärbung 303.
van Giesonfärbung 112, — Anwendung für Achsenzylinder 305, — Amyloid 163, — Bindegewebe 128, — Gefässe 275, — Keratin 133, — Kolloid 163, 277, — Lebercirrhose 281, — Nervenfasern 319, — Nekrose 146, 188, — Pilzfärbung 233, — Prozesse, entzündliche 191, — Protozoen 236, — Schleim 160, — Haut 347, — Knochen 335, — Modifikation von Hansen 113.
Gill, Mc., Modifikation der Mallory-Methode 134.
Gipsplättchen, verzögernde zur Polarisation 8.
Gipsreaktion zum Kalknachweis 184.
Gitterfasern, Darstellung ders. nach Beneke 284, — Bielschowsky 283, — Böhm 283, — Hüter 284, — v. Kupffer 128, — Oppel 284, — Schridde 284, — Verocay 284.
Glandula pituitaria, Untersuchung ders. 332.
Glasblöcke zum Aufkleben von Celloidinpräparaten 61.
Glasschalen 16.
Glastinte zum Signieren der Objektträger 17.
Gliazellen, Darst. ders. 322.
Glieder von Würmern, Untersuchung ders. 246.
Glimmerplättchen, verzögernde bei Polarisation 8, — Ersatz für Deckgläschen 15.
Glykogen 168, — im Blut 267, — in Leukocyten 251, — in Muskeln nach Neukirch 171, — nach Barfurth 169, — Best 170, — Delépine 169, Driessen 170, — Ehrlich 169, — Gulland 267, — Langhaus 169, — Lubarsch 172, — Mayer 172, — Zollikofer 267.
Glyzerin, Einschliessen von Schnitten 84, — Konservierung anatomischer Präparate nach Kaiserling 46.
Glyzerinäthermischung nach Unna 124.
Glyzerin-Eiweissgemisch, Aufkleben von Celloidinschnitten 72, — Paraffinschnitten 77.
Glyzerinesterverfettung 158.
Glyzerinfarbengemisch, nach Ehrlich 263.
Glyzeringelatine 84.
Glyzerin-Giemsagemisch nach Löffler 240.
Glyzerinkarmin nach Beale zu Injektionszwecken 96.
Gmelinsche Probe auf Gallenpigment 181.
Goetschs Darstellung der Knochenhöhlen und ihrer Ausläufer 342.

Goldchloridlösung bei Bielschowsky 130.
Goldimprägnation 99, — nach Apathy 313, — nach Löwit 99, — von Nervenfasern 311, — Methode nach Drasch 330, — nach Freud 313, — nach Kupffer für Sternzellen 284.
Golgi (Holmgrenscher) Apparat 124, Darst. dess. nach Ramòn y Cajal 124, — Imprägnation des Nervensystems 314.
Golodetzsche Methode zur Darst. des Cholesterins 159.
Gonokokken 217.
Gotschlichsche Methode zur Färbung von Pestbazillen 219.
Graf Spees überhitztes Paraffin 66.
Gramsche Bakterienfärbung 206, 211, — Modifikation nach Löffler 208, — Anwendung für Ausstrichpräparate 206, — auf Lepra 232, — bei Protozoen 236, — Schnittpräparate 208, — kombiniert mit Elastikafärbung 141, — modifiziert nach Czaplewski 206, — Löffler 208, — Weigert 211.
Grampositive und -negative Bakterien 207.
Granula, acidophile, basophile, eosinophile, neutrophile der roten Blutkörperchen 257, — der Plasma- und Mastzellen 124, Darstellung ders. nach Unna-Pappenheim 125, nach Ehrlich 126, — sezernierender Zellen nach Galeotti 121, — der Hypophysenzellen 332.
Grasbazillen, Darst. ders. 231.
Grenachers Alaunkarmin 106, — Boraxkarmin 107.
Grünwald-Mays Methylenblaumethode 259.
Guarnierische Körperchen, Färbung ders. 245.
Gullands Methode zur Färbung von Glykogen als Blutbestandteil 267.
Gummischleim für Gefrierschnitte 30.
Gummisyrup nach Apathy 156.
Günthers Modifikation der Grammethode 207, — Färbmethode auf Spirochaete Obermeieri 242.

Hämalaun nach P. Mayer 103.
Hämatein 93, — saures nach Mann zur Kernfärbung 104.
Hämatogene Pigmente 176.
Hämatogene Farbstoffe, Darst. ders. 176.
Hämatoidin, Nachweis 176, 181.
Hämatoxylin 93, — Reifen der Hämatoxylinlösungen 101, — Farblösungen nach Benda 105, — Böhmer 103, — Delafield 103, — Ehrlich 103, — Hansen 105, — Heidenhain 118, — Hüter 132, — Kultschitzky 156, — Mayer 103, — Mann 104, — Mallory 307, — Schüninoff 132, — Weigert 104, — Wolters 307. — Kernfärbung mit Hämatoxylin 101. — Differenzierung bei Hämatoxylinfärbungen 102, — Resultat der Färbungen 105, Schleimfärbung mittels Hämatoxylin 160, — zur Aspergillenfärbung 235, — zum Kalknachweis 184.
Hämatoxylin-Ammoniakkarminfärbung für Knochen 335.
Hämatoxylin-Eosinfärbung 111, — bei Blutpräparaten 269.
Hämatoxylin-van Giesonfärbung 112.
Hämatoxylin-Orange G-Färbung 111.
Häminkristalle, Darst. ders. bei gerichtlicher Blutuntersuchung 274.
Hämofuscin 176.
Hämoglobin 176.
Hämosiderin 176, 177.
Hängender Tropfen bei Bakterienuntersuchung 202, — bei Blutuntersuchung 250.
Härtung der Gewebe 32, — ganzer Objekte 33, s. a. unter Fixierung.

Halls Eisenreaktion 179.
Halsspeicheldrüsen 286.
Hansens Eisenhämatoxylin 105, — Modifikation der van Giesonmethode 113.
Harn, Untersuchung dess. 288, — auf Bakterien 288, — Cylinder 288, — Kristalle 289, Tuberkelbazillen 289, — Tumorenfragmente 288.
Harnapparat, mikroskop. Untersuchung dess. 286—289, — Nachweis der Corpora versicolorata 168, — von Kalkinfarkten 287, — von Nieren- und Blasensteinen 288, — des Stoerkschen Hyalins 287.
Harnblase, Untersuchung ders. 287.
Harncylinder, Darst. ders. 288.
Harnsäure 187, 287, — Salze 289.
Harnsäureinfarkte, Färbung ders. 287, — Vermeidung ihrer Lösung in Formol nach Westenhöffer 46.
Harnsäuresteine, Untersuchung ders. 288.
Harts Modifikation der Weigertschen Elastikafärbung 140.
Hatanos gleichzeitige Färbung von Tuberkelbazillen und Muchschen Formen 229.
Haugsches Gemisch zur Entkalkung 52, 53.
Haupt- und Belegzellen des Magens, Darst. ders. 121, 279.
Haut, Untersuchung derselben 347, — auf Eleïdin 175, — Epithelfasern 348, — Keratin 173, — Keratohyalin 173, — Hornsubstanzen 173, 348, — Interzellularbrücken 349, — Kollagenes Gewebe 348, — Pathogene Pilze 348, — Pigmente 182, — Tätowierungen 183.
Hausers Proteus, Bakterium vulgare 219.
Hayems Flüssigkeit, Darst. und Anw. ders. bei Blutpräparaten 251.
Hefepilze, Darst. ders. 233, 236, — nach Busse 236.
Heidenhains, Eisenhämatoxylinfärbung 118, — zur Darstellung der Gallenkapillaren 282, — der zentroazinären Zellen des Pankreas 285, — der Epithelfasern 348, — Farbgemisch zur Mitosenfärbung 117, — Bindegewebsfärbung 136.
Heizbarer Objekttisch 6.
Helds Ganglienzellenfärbung 298.
Hellys Fixierungsflüssigkeit 41.
Henke und Zellers Schnellmethode für Paraffineinbettung 67.
Hermannsches Fixierungsgemisch 43, — bei der Darst. von Malariaplasmodien 243.
Herxheimer G., Fettfärbung 149, — Verfahren Celloidinschnitte aufzukleben 30, — (Gierlich) Markscheidenmethode 303.
Herxheimer K., Fibrinmethode 198. — Darst. des Keratohyalins 174.
Herpes tonsurans, Färbung des Erregers 234.
Herz, mikroskopische Untersuchung 274, — bei brauner Atrophie 146, 275, — Endokarditis 275, — Myokarddegeneration 275, — Perikard 275.
Herzfehlerzellen, Darst. ders. 277.
Herzklappen, mikroskopische Untersuchung ders. 275.
Herzschwielen, Darst. ders. 275.
Hinterbergers Modifikation der Geisselfärbung 215.
Hirschbergs Glykogennachweis in Leukocyten 251.
Hitze, Anw. ders. zur Fixierung von Blutpräparaten 253.
Hoffmann-Pacinis Mazerationsflüssigkeit zur Blutuntersuchung 273.
Holmgrensche Trophospongienkanälchen, Darst. ders. 124.
Holundermarkplättchen für vitale Zellfärbung nach Arnold 22.
Holzblöcke, Beschaffenheit ders. zur Celloidineinbettung 60.
Honeggers Ammoniakkarmin 109.

Hoppes Modifikation der Weigertschen Neurogliafärbung 326.
Horn, Darst. dess. bei van Giesonfärbung 112, 173, — bei Malloryfärbung 134, 173, -- bei Kockelfärbung 196, — bei der Fibrinmethode Weigerts nach Ernst 173, — nach der Pasinischen Methode 174.
Hornbildung, pathologische Darst. ders. 173, — des Eleïdins 175, — des Keratins 173, — des Keratohyalins 173.
Hornowskis Färbung auf elastische Fasern 141.
Hoyers Schleimfärbung 160.
Hühnercholera, Darst. der Erreger 209.
Hueppe und Neissers Sporenfärbung 212.
Hüter-Schüninoffs Bindegewebsfärbung 132, — zur Gitterfaserfärbung 284, — zur Darst. der Kernkörperchen 119.
Hyalin und hyaline Degeneration 162, 196.
Hyperämie 190.
Hyphomyceten, Darst. ders. 233.
Hypophyse 332, — Granula der Hypophysenzellen 332, — nach Cagnetto 333, — chromophile Zellen 333, — nach M. B. Schmidt 332.

Immersion, — Anwendung ders. 4.
Imprägnation mit Silber- und Goldlösungen 100, 128, 241, 311, 313.
Indifferente Flüssigkeiten zur Untersuchung frischer Präparate 19.
Indophenollösung bei Fettfärbung 151. — Bildung bei der Oxydase-Reaktion 122.
Indulin-Glyzerinlösung zur Granulafärbung 264.
Infarkte, Untersuchung ders. 190.
Influenzabazillus, Darst. dess. 218.
Injektion 95, — mit kaltflüssigen Gemischen 96, — mit warmen Injektionsmassen 97, — mit Bealeschem Glyzerinkarmin 96, — mit Tandlerscher Gelatine 96, — nach Frey 97, — Thiersch 97, — mit Milch 98, — zur Darstellung der Gallenkapillaren 283, — Härtung injizierter Gewebe 96, — von Lymphgefässen 96, — Selbstinjektion am lebenden Tier 98.
Injektionsapparat nach Toldt 95.
Instrumente, mikroskopische 3.
Intercellularbrücken, Darst. ders. 128, — nach Kolossow 349.
Irisblende 4.
Isolationsflüssigkeiten für Zupfpräparate 23.
Isosafrol, Anw. dess. bei der Durchsichtigmachung von Geweben nach Spalteholz 98.

v. Jagiczs, Anwendung der Neurogliamethode Weigerts zur Darstellung von Gallenkapillaren an Gefrierschnitten 282.
Japanische Aufklebemethode 73.
Jenners Blutfärbung 254, 271.
Joachims Untersuchungsmethode von Darminhalt 280.
Jod, Nachweis dess. in mikroskop. Präparaten nach Justus 187, — zur Amyloidreaktion 164, — Glykogenreaktion 169, — desgl. in Leukocyten 267, — Cholesterinnachweis 159.
Jodalkohol zur Beseitigung von Sublimatniederschlägen 41.
Jodchlorzinkreaktion auf Chitin 246.
Jodgrünfärbung auf Amyloid 167.
Jodgummilösung Ehrlichs zum Glykogennachweis 251, 267.
Jodjodkalium zur Amyloidreaktion 164, — zur Beseitigung von Sublimatniederschlägen 41, — zum Nachweis der Corpora amylacea 168, — zur

Mazeration nach Arnold 24, — zur Spermareaktion nach Florence 346, — zur Glykogenfärbung 169, — zur Gramschen Bakterienfärbung 206, 211, — zur Fibrinfärbung nach Weigert 193, — nach Kobert-Takayama zur Spermareaktion 346, — nach Weigert zur Neurogliafärbung 323, — verdünntes für frische Präparate 20, 251.

Jodnatrium-Eisessiggemisch für Häminkristalle 274.

Jodschwefelsäure zur Amyloidreaktion 165.

Johnes Bakterienkapselfärbung 213, — bei Milzbrandbazillen 220.

Jores Färbung auf Bindegewebe und elastische Fasern 142.

Joris Molybdänfärbungen 313.

Jürgens Metachromasie bei Amyloidfärbung mit Anilinfarben 165.

Jungs Mikrotom 14.

Justus' Nachweis von Jod in Geweben 187.

Kaiserlings Fixierungsflüssigkeit 46.

Kala-Azarkörperchen, Darstellung ders. 244.

Kalilauge zur Untersuchung frischer Präparate 20, — bei Bakterienuntersuchung 201, 204, — zur Fettdarstellung in Leukocyten 251, — als Mazerationsflüssigkeit 23, — zur Pilzuntersuchung 233, — bei der Darst. der trüben Schwellung 147.

Kalilauge-Alkohol zur Beseitigung von Formolniederschlägen aus Schnittpräparaten 36.

Kalium, Nachweis dess. in Geweben nach Mc Callum 187.

Kalium aceticum 84, — bichromicum, Anw. bei der Schleimfärbung 161, — als Beize bei der Mallory-Färbung 133, — bei Mc Gill 134, — zur Darst. der Altmannschen Granula 119, — fettsaures 154, — übermangansaures zur Darstellung des Keratohyalins 173, — zum Bleichen von Pigmenten 183, — bei Weigerts Fibrinfärbung 193.

Kaliumbichromat-Fluorchrom-Gemisch nach Weigert 300.

Kaliumbichromat-Formollösung nach Wiesel 290.

Kaliumbichromat-Osmiumsäure-Gemisch nach Altmann 43, — — Golgi 314.

Kaliumbichromat-schwefelsaure Kupferoxydlösung nach Wolters 307.

Kaliumbichromat-schwefelsaure Natriumlösung (Müllersche Flüssigkeit) zum Fixieren 39.

Kaliumkarmin nach Best zur Glykogenfärbung 171.

Kaliumpermanganat, Bleichen von Pigmenten 183.

Kalium sulfit-Oxalsäure nach Pal 303.

Kalk, Entziehung dess. aus Geweben 50, — im ungefärbten Präparat 184, — durch Löslichkeit in Säuren 184, — Nachweis nach Leutert 184, — nach von Kossa 185, — Roehl 184, 186, — Stöltzner 186, — fettsaurer, Nachweis dess. nach Ciaccio 155, nach Fischler 154, — kohlensaurer im Harn 289, — oxalsaurer, Nachweis im Harn 289, — phosphorsaurer, Nachweis nach v. Kossa 185, — — Roehl 186, — im Harn 289.

Kalkgehalt, Nachweis in Knochen 183, 336.

Kalkinfarkte des Harnapparates, Darst. ders. 287.

Kalziumkarbid, zur Prüfung des absoluten Alkohols 38.

Kanadabalsam 5, — Erlangung einer richtigen Konsistenz 80, — neutraler 80.

Kantorowiczsche Thionin-Methode auf Amyloid 167.

Kapillaren, — Gallen- der Leber 282.

Kapillarthromben, Darstellung ders. 98.

Kaplans Achsenzylinderfärbung 309.

Kapselbakterien, Darst. der Kapseln 213, — bei Milzbrandbazillus 220, — Pestbazillus 219, — Pneumoniebazillus 216, 217, — Rhinosklerombazillus 218.
Karbolfuchsin 205, — Färbung von Bakterien 205, 212, — Kernteilungsfiguren 116, — Kokken 217, — Pilzen 233, — Tuberkelbazillen 226, — nach Russel auf Zellgranula 123.
Karbolfuchsin-Glyzerinlösung nach Czaplewsky 206.
Karbolfuchsin-Methylenblau zur Färbung des Meningococcus (Fränkel) 216.
Karbolsäure als Entwässerungsmittel 81.
Karbolthionin nach Nicolle 205, — bei Levaditi-Färbung 241.
Karbolthionin-Pikrinsäure zur Darstellung der Knochenhöhlen und deren Ausläufer 342.
Karbolwassergentianaviolett nach Czaplewsky 206.
Karbolwasser-Jodgrün nach Russel 123.
Karbolwasser-Methylviolett nach Löffler 204.
Karbolxylol, Herstellung dess. 81.
Karmin 93, 106—108, — Alaunkarmin 106, — nach Grenacher 106, — alkoholisches Alaunkarmin 126, — Ammoniakkarmin nach Honegger 109, — Ammoniakpikrinkarmin nach Ranvier 114, — Boraxkarmin nach Grenacher 107, — Karmalaun nach Mayer 106, — Lithionkarmin nach Orth 107, — Pikrokarmin 110, 114, — nach Friedländer 114, — nach Orth 114, — Pikrinsäurekarmin nach Thoma 114, — Salzsäurekarmin nach Mayer 107.
Karmingemisch nach Beale zur Stückdurchfärbung 126, — zur Injektion 96.
Karminleimmasse (Frey) zu Injektionszwecken 97.
Karminmethode nach Best auf Glykogen 170.
Karminsäure 106.
Kasarinoffscher Gummisyrup 156.
Katarrh, Untersuchung von Schleim 276.
Katós Argentamin 312.
Kephalin 154, 157.
Keratin, Darst. dess. 173.
Kerathohyalin, Darst. dess. nach Fick-Herxheimer 174, — nach Herxheimer 174, — nach Mallory 134, — nach Pasini 174, — nach Unna 173.
Kernfärbungen 101, — mit Anilinfarben 108, — Hämatoxylinlösungen 103—105, Karminlösungen 106—107. — Differenzierungsflüssigkeiten bei Kernfärbungen 102, — kombiniert mit Plasmafärbungen 110, — bei nekrotischen Prozessen 188, — bei Pigmentierung 176.
Kernkörperchen, Darst. dess 119.
Kernstrukturen, Darst. ders. 115—119.
Kernteilungsfiguren, Darstellung ders. 114, — bei Geschwülsten 200, — nach Baumgarten in Verbindung mit Tuberkelbazillenfärbung 118, — Fixierungsflüssigkeiten: — Flemmingsches Gemisch 115, Sublimatgemische 117, 118, — Färbungen nach Babes 115, — Benda 116, — Bielschowsky 130, — Ehrlich-Biondi-Heidenhain 117, — van Gieson 115, — Gram 115, — mit Anilinwassersafranin 115, — mit Safranin 115.
Kieselstaub eingeatmeter, Darst. dess. 183.
Klaatschs Knochenfärbung 336.
Kleinenbergs Pikrinschwefelsäure 44.
Kleins Sporenfärbung 212.
Kletts Methode zur Färbung der Bakterienkapseln 213.
Klingmüllers Sublamin 42.
Knauers Methode zur Reinigung von Objektträgern 15.

Kniejaskows Gemisch zur Fixierung von Blutpräparaten 254.
Knochen 334—343, — allgemeines 334–338, — Übersichtsbilder 335, — Darst. der einzelnen Strukturelemente 338—343, — — des fibrillären Aufbaus 339, — der Gitterfiguren 339, — der Knochenfibrillen nach Schmorl 341, — der Knochenlacunen und ihrer Ausläufer nach v. Recklinghausen 339, — nach Schmorl 340, — nach Goetsch 342, — nach Zimmermann 339, — — Osteoblasten und Osteoklasten 342, — — Sharpeysche Fasern 338, — Entfettung 56. — Entkalkung 50, — Entwicklungsverhältnisse des Knochens, Darst. ders 336, — Untersuchung auf Kalkgehalt 183, — in nicht oder unvollkommenen entkalktem Knochen 337—338, — Unterscheidung kalkloser und kalkhaltiger Knochen 341.
Knochenmark, Entnahme dess. 248, — Darst. der Osteoblasten und Osteoklasten 342.
Knochenmarkriesenzellen, Darst. ders. 256.
Knochenschliffe 342.
Knoll u. Wehrli, Darst. der Muchschen Tuberkelbazillenformen 229.
Knorpel, Darst dess. 343, — Mitfärbung bei der Methode Loewensteins 135, — bei derjenigen Pasinis 136.
Kobalt, Anw. dess. zum Nachweis von Kalium in Geweben 187.
Koberts Methode zur Untersuchung von Darminhalt 280.
Kobert-Takayamas Spermareaktion 346.
Koch und Mansons Malariaplasmodienfärbung 243.
Koch-Ehrlichsche Tuberkelbazillenfärbung 225.
Koch-Weeksscher Bacillus conjunctivitidis 218.
Kochmethode zur Fixierung von Geweben 45, — zur Darst. eiweisshaltiger Flüssigkeit in Harnkanälchen 286, — zum Nachw. von Lungenödem 276.
Kochsalzlösung, isotonische 19, — bei Untersuchung auf Protozoen 236, — beim Nachweis der Sharpeyschen Fasern 338.
Kochsalz-Salpetersäuremischung nach Haug zur Entkalkung 52.
Kochsalz-Salzsäuremischung, alkoholische zur Entkalkung 53.
Kockels Fibrinfärbung 195.
Köllikers Methode zur Färbung der Sharpeyschen Fasern 338.
Kohle, Nachweis in Geweben 183.
Kohlensäuregefriermikrotom 27.
Kohns Methode zur Darst. chromaffiner Zellen 290.
Kokken, Farbreaktionen ders. 216, — Gonokokken 216, — Meningokokken 216, — Micrococcus tetragenus 217, — Micrococcus melitensis 217, — Pneumokokken 216, — Staphylo- und Streptokokken 216, 217.
Kokubos Färbemethode der Haupt- und Belegzellen 279.
Kolben bei Pilzen 233.
Kollagenes Bindegewebe, Darstellung bei Bielschowskys Methode 128, — van Gieson 128, — Hansen 105, — Hüter 132, — Mallory 133, — Ribbert 131, — Timofejew 136, — Verocay 131, — Traina 136, — Unna 137.
Kollodium, Anwendung für Celloidinschnitte 59.
Kolloid, Darst. dess. 162, — bei Pasini 174.
Kolophonium 80.
Kolophonium-Xylol, Herstellung dess. 296, — Einbetten von Ganglienzellen präparaten 296.
Kolossows Methode zur Darstellung der Intercellularbrücken 349.
Kompensationsokulare 5.
Kommabazillus, Darst. dess. 233.

Kolsters Färbung der Haupt- und Belegzellen 279.
Kondensor am Mikroskop 4, — zur Dunkelfeldbeleuchtung 8.
Kongorot zur Eleïdinfärbung 175.
Koniosen, Darst. dess. 183.
Konkrementbildung 183.
Konservierung frischen Blutes 248, — anatomischer Präparate 46, — gefärbter Präparate 84, — in Glycerin 84, — Glyceringelatine 84, — Kanadabalsam 84, Kolophonium 296, — Lävulose 84, — Solutio Kali acetici 84, — nasse der Malariaplasmodien 243.
Körnchenzellen, Darst. ders. im Zentralnervensystem 321.
Korallin-Methylenblau-Glyceringemisch nach Pappenheim 232.
v. Kóssas Reaktion auf phosphorsauren Kalk 185.
Kossels Pestbazillenfärbung 219.
Krätzmilben, Nachweis ders. 246.
Kreosot als Entwässerungsmittel für Paraffinblöcke nach Pavlow 65.
Kresofuchsin nach Röthig 140.
Kresylviolett zur Ganglienzellenfärbung 298, — zur Färbung des Keratohyalins 174.
Kreuztisch 9.
Kristalle im Harn, Untersuchung ders. 289.
Kromayers Färbung der Epithelfasern 348.
Kronthals Imprägnationsmethode mit Bleisulfid 315.
Künstliche Verdauung nach Spalteholz 24.
Kultschitzkys Hämatoxylin 156, — Modifikation der Weigertschen Markscheidenfärbung 301, 303.
Kupfer, Nachweis dess. in Geweben 187.
Kupferbeize bei Hämatoxylinfärbungen 104, — für Markscheidenfärbung nach Weigert 300, — nach Weigert (Schmorl) zum Kalknachweis 185.
Kupfersulfat, geglühtes zur Entwässerung von Aceton und Alkohol 68, — ammoniakalische Lösung zum Nachweis von phosphorsaurem Kalk 186.
v. Kupffersche Gitterfasern, Darst. ders. 128, 136, 283, 284, — Sternzellen, Darst. ders. 284.

Lävulose, zum Einschliessen von Schnitten 84.
Lamlia intestinalis 236.
Landsteiners Nachweis der trüben Schwellung 147.
Langs Thionin-Fuchsinlösung zur Kokkenfärbung 217.
Langerhanssche Zellinseln, Darst. ders. 285.
Langhans, Aufkleben von Schnitten 78, — Reaktion auf Amyloid 164, — auf Glykogen 169.
Langleys Färbung degenerierter Nerven 320.
Lauthsches Violett 94.
Laverans Fixierung von Trypanosomen 237.
Leber, Gallenpigmente 181, — Tumoren 281, — Gallenkapillaren 282, — Kupffersche Gitterfasern 283, — Kupffersche Sternzellen 284.
Lecithin 154, — Darst. nach Ciaccio 156.
Lee-Mayers Tabelle für Alkoholverdünnung 39.
Leishmans Methode 261, — Anwendung für Blutpräparate 254, 265, — für Trypanosomen 237, — für Blutparasiten 268.
Lenhosséks Methode für Ganglienzellen 297, — für Lipochrome ders. 299.
Lentzsche Methode zur Darst. der Negrischen Körperchen 244.
Leprabazillen, Darst. 232, — Unterscheidung von Tuberkelbazillen 233.

Leucin bei der Nekrose 189, — im Harn 289.
Leutertsche Kalkfärbung 184.
Levaditis Silberimprägnation zur Darst. der Spirochaeten 241, — Darst. des Mycels von Pilzen 234, — von Pigmenten 182.
Levinsohns Fettfärbung von Exkreten und Sekreten 151.
Lichtbrechungsvermögen hyaliner Massen 162.
Lichtquellen bei der Mikrophotographie 12, — Filter 13.
Liebermanns Konstitution der Karminsäure 93.
Ligroinmethode zur Anreicherung von Tuberkelbazillen 224.
Linsen, Reinigung ders. 6.
Lipochrome, Darstellung 182, — der Ganglienzellen nach Lenhossék 299.
Lipoide 154 ff., Darstellung nach Ciaccio 155, — Fischler 154, — Lorrain Smith 156, — in polarisiertem Licht 154, 157.
Liquor ferri sesquichlorati, Anwendung bei Weigerts Elast. Fasern-Färbung 138.
Lithion carbonicum 107.
Lithionkarmin (Orth) zur Kernfärbung 107, — Vorfärbung bei Weigerts Fibrinfärbung 193, — bei Hüter 133, — bei Mallory 134.
Löffler, Geisselfädenfärbung 214, 238, — Spirochätenfärbung 240, — Malariaplasmodienfärbung 243, — Färbung der Spirochaete Obermeieri 242, — Methylenblau 204, — Methylenblau-Bromeosinfärbung 217, — Färbung von Pilzen 235, — Modifikation der Gramschen Färbung 208, — Rotzbazillenfärbung 221.
Loeles Modifikation der Mallory-Färbung 135.
Lösung, starre, Theorie ders. 88.
Löwensteins Modifikation der Mallory-Färbung 134.
Löwitsche Goldimprägnation 99.
Lorrain-Smithsche Fettfärbung 153, — Lipoid-Darstellung 156.
Lubarschs Paraffinschnellmethode 67, — Glykogenmethode 172.
Lugolsche Flüssigkeit 193, — zur Untersuchung frischer Präparate 20, — zur Beseitigung von Sublimatniederschlägen 41, — zur Färbung von Amyloid 165, — Glykogen 169, — zur Entfernung des Silbers bei der Levaditi-Imprägnation 242.
Lumbalflüssigkeit, Untersuchung ders. auf Tuberkelbazillen 223, 334.
Lumières Autochromplatten 12.
Lunge 276, — Nachweis der Corpora versicolorata 168, — Fettembolie 276, — Pneumonie 276, — Tuberkulose 277, — Ödem 276.
Lupe, Anw. ders. 1.
Lustgartenscher Bazillus 231, — Unterscheidung von Tuberkelbazillen 231, 232.
Luteïn, Nachweis dess. 182.
Lymphgefässe, Injektion ders. 95.
Lymphocyten 265, s. auch Blut.
Lyssa 244.

Macerationsflüssigkeiten 23, — bei Blutflecken 273, — bei Spermaflecken 346.
Mc Callum, Reaktion auf maskiertes Eisen 180, — Phosphornachweis 187.
Mäuseseptikämie, Färbung des Erregers 220.
Magen 278, — Inhalt 279, — Haupt- und Belegzellenfärbung 121, 279.
Magnesiumsalze 184.
Maier, Aufkleben von Celloidinschnitten 78.
Makroskopische Präparate, Fixierung und Härtung ders. 45.
Malachitgrün zur Färbung der Spirochaete pallida 240.
Malakoplakie 287.

Malariaplasmodien, Färbung ders. nach Giemsa, Löffler, Romanowsky, Manson, in Schnittpräparaten 243, — nach Sternberg 244.
Malcolm-Morris-Methode zur Darstellung von Hautpilzen 236.
Mansons Färbung der Malariaplasmodien 243.
Mallory, Dreifarbenmethode 133, — Anwendung für Kernkörperchen 119, — für Horn 174, — für die Leber 284, — das Pankreas 285, — Achsenzylinderfärbung 307, — Neurogliafärbung 326, — Fibrinmethode 198.
Malls Verdauungsmethode 24.
Manns, Neutralisation des Formols 36, — Beseitigung von Sublimatniederschlägen 41, — Endothelgrenzen-Darstellung 100, — Saures Hämateïn 104, — Methode zur Darstellung der Negrischen Körperchen 245.
Marchis, Fixierungsgemisch 43, — Darstellung von Fett 151, — Färbung degenerierter Nerven 318.
Mareschs Silberimprägnation der Bindegewebsfibrillen 128.
Markscheiden 299—305, — Darstellung nach Fränkel 305, — Gierlich-Herxheimer 303, — Mallory 134, — Spielmeyer 304, — Vassale 303, — Weigert 299, — Modifikation nach Pal 302, — Kultschitzky-Wolters 301.
Martin und Fields Celloidin-Paraffineinbettung 68.
Mastigophoren 236.
Mastzellen, Färbung nach Ehrlich 126, — Granula-Darstellung bei Bests Glykogenfärbung 170, — nach May-Grünwald 259, — nach Giemsa 261, — nach Türk 264, — nach Westphal 264, — in Blutpräparaten 257.
Mayer Hämalaun 103, — saures Karmin 107, — Karmalaun 106, — Mucikarmin 162, — Chlorsäurelösung zur Entpigmentierung 56, — Glykogenfärbung mit Eisengallustinte 172, — Salpetersäuremischung zur Entkalkung 53. — Prüfung des Alkohols auf seine Reinheit 38.
May-Grünwald-Methode 259, — Anwendung für Schnittpräparate nach Assmann 272, — Fischer 272, — Zieler 271.
Mehrfachfärbung im allgemeinen 91, 110.
Melanotische Pigmente, Darst. ders. 182.
Membran, undulierende der Trypanosomen, Darst. ders. 237.
Meningokokkus Weichselbaums 216, — im Blut 268.
Merkels Fixierungsgemisch 44.
Mesoglia, Färbung ders. nach Ford-Robertson 328.
Metachromasie 91, — bei Amyloidfärbung 165, — bei Schleimfärbung 160.
Metallimprägnation 99.
Metallsalze, ihre Beizwirkung 89.
Methylalkohol zur Fixierung von Blutpräparaten 253, 257.
Methylenazur, Anw. dess. bei Blutfärbung 260.
Methylenblau 94, — polychromes nach Unna 124, — nach Fränkel 210, — nach Zieler 210, — eosinsaures, Herstellung 259, — zur Bakterienfärbung nach Löffler 204, 209, — Blutfärbung 258, — Kernfärbung 108. — Schleimfärbung 161, — Tuberkelbazillen 225, — vitale Methode nach Ehrlich 316.
Methylenblau-Bromeosin nach Löffler 217.
Methylenblau-Eosinfärbung nach Chenzinski, Michaelis, Villard 258, — Giemsa 260, — May-Grünwald 259, — v. Müllern 258, — für Blutpräparate 269.
Methylenblau-Jodfärbung nach Türk 264.
Methylenblau Korallinglyzerinmischung Pappenheims 232.
Methylenblau-Tropäolinmischung für Rekurrensspirillen 242.
Methylenblau-Seifenlösung Nissls 294.

Methylgrün, zur Amyloidreaktion 167, — bei der Triazidfärbung 262, — bei der Oxydasereaktion nach W. Schultze-Fursenko 123, — für Samenflecken 347.
Methylgrün-Orange G-Säurefuchsinlösung nach Ehrlich-Biondi-Heidenhain 117.
Methylgrün-Pyronin, Methode Unna-Pappenheims 125, — Anwendung für Bakterien 211, — Gonokokken 217, — Lymphocyten 265, — Ganglienzellen 298.
Methylviolett 94, — zum Nachweis von Amyloid 165, — bei Bakterienfärbung 204, — nach Paltauf 195, — bei Weigerts Fibrinmethode 192, — nach Sharnowsky 195, — zur Mitosen Darstellung 116.
Methylviolett-Anilinwasser bei Bakterienfärbung 204, — Fibrinfärbung Weigerts 192, — Epithelfasernfärbung nach Kromayer 348.
Methylviolett-Karbolwasser Löfflers 208.
Methylviolett-Oxalsäuremischung für Neurogliafärbung 323.
Michaelis, Methode zur Darstellung der Plasmazellen 125, — Theorie der Weigertschen Elastika-Färbung 140.
Michailows Fixierung von Methylenblaufärbungen von Nerven 317.
Mikrometerschraube 7.
Mikroorganismen, Färbung ders. 201—246.
Mikrophotographie 11.
Mikroplanare 11.
Mikroskop 3, — Beleuchtungsapparat 4, — Bezugsquellen 3, — Blenden 4, — Dunkelfeldbeleuchtung 8, — heizbarer Objekttisch 6, — Lichtquellen 12, — Objektive und Okulare 5, — Objektmikrometer 7, — Ölimmersion 4, — Okularmikrometer 6, — Polarisationsvorrichtung 7, — Spiegel 4, — Stativ 4, — Zeichenapparat 9.
Mikrosporon furfur 234, — minutissimum 234.
Mikrotome 14, — Gefriermikrotome 26, — für eingebettete Objekte 69.
Milchinjektion nach Fischer in Kapillaren 98.
Milzbrandbazillus 220, — Färbung nach Klein 212, — der Gallerthülle nach Johne 213, 220.
Mineralsäuren bei frischen Objekten 20.
Minervinis Modifikation der Weigertschen Elastikafärbung 140.
Minotsches Gemisch 161, — Mikrotom 69.
Mitosen, Darst. ders. 114 ff.
Mitralis, gelbe Flecken ders. 275.
Moellers Sporenfärbung 212.
Molybdänsäure zum Nachweis von Phosphor 187, — von phosphorsaurem Kalk 186.
Mosers Mazerationsflüssigkeit zur Blutuntersuchung 273.
Mönckeberg (Bethe) Fibrillendarst. markhaltiger Nerven 331.
Muchsche granuläre Form der Tuberkelbazillen 228, — Färbung nach Hatano 229, — Weiss 229, — Wehrli und Knoll 229.
Mucikarminmethode Mayers 162.
Mucihämateïnmethode Mayers 161.
Mucin 159, — Unterscheidung von Pseudomucinen 159.
Mukorineen 234.
Müllersche Flüssigkeit 39, — Anw. bei chromaffinen Zellen 290, — bei Russelschen Fuchsinkörpern 123.
v. Müllerns Methylenblau-Eosinmethode zur Blutfärbung 258.
Muirs Bakterienkapselfärbung 213.
Muskeln 343, — Färbung nach van Gieson 112, — Geschwülste 200, — Quer-

streifung 343, — Spindeln 344, — Trichinen 246, — Zupfpräparate 343, — nach Mallory 133, — nach Pasini 136.
Muskelfasern, Querstreifung, Darst. nach Heidenhain 118.
Muskelglykogen, Darst. dess. nach Neukirch 171.
Mycel des Actinomyces 234.
Myelin 154, 158, — Darst. nach Ciaccio 155, — Lorrain-Smith 156, — Fischler 154, — in polarisiertem Licht 154, — bei Nekrosen 188.
Myeloblasten 255.
Myelocyten 255.
Myeloische Zellreihe, Unterscheidung ders. von der lymphoiden 266.
Myogliafasern, Darst. ders. 344.
Myokard-Degeneration, Darst. ders. 275.

Nakanishis vitale Bakterienfärbung 202, — Färbung frischer Blutpräparate 250.
Naphtolblausynthese zur Granuladarstellung 121/122.
Nasse Konservierung von Malariaplasmodien 243.
Natrium, fettsaures, Darst. dess. 154, — harnsaures 289, — unterschwefligsaures zum Nachweis von Harnsäure 187, — zitronensaures zur Darstellung der undulierenden Membran der Trypanosomen 237.
Natriumnitrat, Anw. bei Injektionen 95.
Natriumsulfitlösung, Anw. bei Bielschowsky 130.
Natriumsulfit-Chromogenameisensäure bei Weigerts Gliamethode 323.
Natriumthiosulfat bei der Levaditi Methode 242, — bei Giemsa 271.
Natronlauge, Lösungsmittel für Pigmente 183, — als Zusatz zu Scharlach R-Lösungen 149.
Nebenniere 289, — Chromreaktion nach Kohn 290, — Schmorl 290, — Wiesel 290.
Negrische Körperchen 244, — Darstellung nach Bohne 245, — Lentz 244, Stützer 245.
Negrobleistift, Anw. an Celloidinklötzen 62.
Neelsen s. Ziehl.
Neissersche Färbung der Ernst Babesschen Granula 220, — und Hueppes Sporenfärbung 212.
Nekrose, mikrosk. Untersuchung ders. 188.
Nerven, periphere 330, — Darstellung nach Drasch 330, — v. Frey 331, May 330, — Ranvier 330.
Nervenfasern, Imprägnation nach Apathy 313, — Cohnheim 99, — Drasch 330, — Silberimprägnation nach Bielschowsky 310, — Golgi 313, — Ramòn y Cajal 311.
Nervenfibrillen markhaltiger Nerven, Darstellung nach Bethe und Mönckeberg 331.
Nervensystem 291—333, — peripheres 330, — Zentralnervensystem 291—298, Einbettung 292, — Härtung 291, Färbung 293, — Übersichtsbilder 293 — Darstellung von Achsenzylindern 305, — — Degenerative Prozesse 317, — — Epiphyse und Hypophyse 332, — Ganglienzellen 294. — Geschwülste 200, — — Gleichzeitige Darstellung mehrerer Strukturen 313, — Körnchenzellen 321, — — Marchi-Methode 318, — Markscheiden 299, — an Gefrierschnitten 304, — — Neurofibrillen 305, — — Nissl-Granula 297, — Neuroglia 322, — Rückenmark (Gehirn) Punktionsflüssigkeit 334, Syphilitische Veränderungen 293.
Neukirchs Nachweis von Muskelglykogen 171.
Neumayers Celloidinverfahren 60.

Neurofibrillen, Darstellung nach Bielschowsky 310, — Ramòn y Cajal 311, — Donaggio 312.
Neuroglia 322, — Darstellung nach Benda 326, — Fieandt 328, — Mallory 326, — Weigert 322, — Modifikation der Weigertschen Färbung nach Bartel 325, — — Gálesescu 325, — — Nissl 326, — — Spielmeyer 324
Neutral-Farbstoffe 91.
Neutralfette, Darst. ders. 148.
Neutralrot, Anw. dess. bei Lipoidfärbungen 158, — bei frischen Blutpräparaten 251, — bei gonokokkenhaltigem Eiter nach Plato 202, — bei Knochenhöhlen nach Goetsch 342, — bei Nekrosen 188, — für Nissl-Schollen 297, — nach Rosin 298, — bei vitaler und supravitaler Färbung 21.
Neutrophile Granula, Färbung ders. 121.
Neutrophile Leukocyten und Myelocyten 255.
Nicolaiers Tetanusbazillen 220.
Nicolles Karbol-Thionin zur Bakterienfärbung 205, — Differenzierungsflüssigkeit 207, — Kapselfärbung des Milzbrandbazillus 220, — Gerbsäurelösung 209.
Nieren 287, — Nierensteine 288.
Nigrosinlösung zur Darst. des Eleïdins 175, — eosinophiler Granula 264, — der Achsenzylinder 308.
Nikiforoffs Färbung der Spirochaete Obermeieri im Schnitt 242.
Nilblausulfat zur Fettfärbung nach Lorrain-Smith 158.
Nisslsche Körperchen 147, 294, — Nisslsche Ganglienzellenfärbung 294, — Darst. nach Heidenhain 118.
Nitrogruppen, als chromophore Gruppen 94.
Noeske und Friedrichs Aktinomycesfärbung 230.
Noniewiczs Rotzbazillenfärbung 222.

Obermeiers Spirochäte, Färbung ders. 242.
Objektive 4, — Reinigen ders. 5.
Objektmarkierer zum Wiederauffinden bestimmter Stellen 9.
Objektmikrometer 7.
Objekttisch, beweglicher 6, — heizbarer 6, Anwendung dess. bei vitaler Bakterienuntersuchung 202, bei Protozoen 236, bei Blutuntersuchung 251.
Objektträger 15, — Reinigen 15, — Gestelle 16.
Obregias Verfahren, Celloidinserienschnitte herzustellen 77.
Ochronose, Darst. ders. 183.
Ödembazillus, Färbung dess. 220.
Öl, ätherische Aufhellung in solchem 81.
Öl-Immersion 4, — bei Bakterienuntersuchung 201.
Oelsners Exsikkatorgefäss 38.
Okulare 5.
Okularmikrometer 6.
Olts Methode zur Aufklebung von Celloidinschnitten 31, — von Serienschnitten 78.
Oppels Gitterfasernfärbung 284.
Opplers Färbung auf Eleïdin 175.
Orange G 94, — mit Hämatoxylin als Kern-Plasmafärbung 111, — bei Mallorys Färbemethode 133, — bei Ehrlich, Biondi, Heidenhain 117.
Orceïn, Anw. bei Unna-Tänzers Elast. Fasernfärbung 143, 145, — nach Pranter 143, 210, — nach Fränkel 143.
Orceïn-Wasserblau-Methode Unnas zur Epithelfasernfärbung 349.
Organe, Fixierung ganzer 33, 45.
Origanumöl zur Aufhellung von Celloidinpräparaten 68.

Orseille nach Weigert zur Färbung des Actinomyces 234.
Orths Fixierungsgemisch 36, — Anw. bei trüber Schwellung 147, — bei chromaffinen Zellen 290.
Orths Lithionkarmin zur Kernfärbung 107.
Osmiumsäure 20, — zur Fettfärbung 151, — zur Fixierung von Blutpräparaten 254, — Fettfärbung in Blutzellen 267, 269.
Osmiumsäuredämpfe, Anw. bei Untersuchung von Amöben 237.
Osmiumsäuregemische zur Fixierung 42, — Gemisch nach Altmann 43, — Flemming 43, — Hermann 43. — Marchi 43.
Osteoblasten und Osteoklasten, Färbung nach Askanazy 342.
Oxalsäure zum Kalknachweis 184, — bei Weigerts Fibrinmethode 193.
Oxalsäure-Kaliumsulfit-Mischung Pals 303.
Oxalsteine, Untersuchung ders. 288.
Oxydasereaktion nach W. Schultze 121, 266.

Paladiumchlorid, für Granula nach Galeotti 121.
Pals Modifikation der Weigertschen Markscheidenfärbung 302.
Paltaufs Herstellung der Methylviolettlösung 195.
Pankreas 285, — Darstellung der Fettgewebsnekrosen nach Benda 285, — nach Berner an Paraffinschnitten 286.
Pankreatin, Anw. dess. bei Malls Verdauungsmethode 137.
Pappenheim (s. auch Methylgrün), Unterscheidung von Smegma- und Tuberkelbazillen 232, — vitale Bakterienfärbung 202, — Kombination der May-Grünwald- und Giemsa-Färbung 262, — Fixierung von Blutpräparaten 254.
Paraboloidkondensor 8.
Paraffineinbettung 63, — bei Blutpräparaten 269, — Aceton-Paraffineinbettung 67, — Aufbewahrung der Blöcke 64, 65, — Aufkleben der Blöcke 65, — von Ausschabungen 344, — Chloroform bei der Einbettung 65, — Einbettungsrahmen 64, — Herstellen des Blockes 64, — in Flüssigkeit suspendierter Teilchen 190, 199, — Schneiden 70, — Aufkleben der Schnitte s. unter A., — Färben etc. ders. 83, — Verhüten des Schrumpfens ders. 71, — Entfernung des Paraffins aus dens. 83, — Schnelleinbettung 67, — Schwefelkohlenstoff bei der Einbettung 66, — überhitztes Paraffin nach Graf Spee 66.
Paraffinofen 14, 63.
Paraganglien 289, — Färbung der chromaffinen Zellen nach Kohn 290. — Schmorl 290, — Wiesel 290.
Parasiten, pflanzliche 201, — Bakterien 201, — Blastomyceten 233, — Fadenpilze 233, — Hyphomyceten 233, — Trychomyceten 233, — Schimmelpilze 233.
Parasiten, tierische 236, — im Blut 268, — in Flüssigkeiten 246, — im Sputum 278, — Amöben 237, — Bandwürmer 246, — Coccidien 242, — Darmparasiten 280, — Dysenterieamöben 237, — Echinokokken 246, — Krätzmilben 246, — Malariaplasmodien 242, — Muskeltrichinen 246, — Protozoen 236, — Spirochäten 238, — Trypanosomen 237.
Parasiteneier, Nachweis 281.
Paratyphusbazillus 218, — im Blut 268.
Parker, Formolalkohol 37.
Partschs Entkalkungsmethode mit Trichloressigsäure 53.
Pasinische Methode für Keratohyalin 174, — Anwendung für Bindegewebe 136, — für Kernkörperchen 119.
Pavlows Kreosot zum Entwässern von Paraffinobjekten 65.
Pelikantusche nach Burri 240.

Penicillen 234.
Pepsinverdauung als Mazerationsmethode 24.
Perikard, mikr. Untersuchung 275.
Periphere Nerven, Darst. 330.
Perls Berlinerblaureaktion eisenhaltiger Pigmente 177.
Pestbazillen, Färbung 219, — nach Kossel 219.
Pfeiffers Fuchsinfärbung für Bakterien 210, — Influenzabazillus 218.
Phlegmone, emphysematöse, Färbung des Erregers 220.
Phloroglucinmethode zur Entkalkung 52.
Phosphatide 154, 157.
Phosphatsteine, Untersuchung ders. 288.
Phosphor, Nachw. dess. 187.
Phosphormolybdänsäure nach Mallory 133, — Ribbert 132, — Hüter 132.
Phosphorsaurer Kalk, Nachweis dess. 185.
Phosphorwolframsäure 197, — als Beize bei Hämatoxylinfärbung 104, — bei Hornfärbung nach Pasini 174, — bei Darstellung der Knochenlakunen 340.
Photoxylineinbettung 62.
Photoxylin-Dextrinzuckerlösung 74.
Phrenosin 154, 157.
Pianeses Methode für Zelleinschlüsse 124, — Hyalin 163.
Pigmente, Darst. 175—183, — Bleichen 183, — autochtone 182, — Blutpigmente 176, — eisenfreie 176, — eisenhaltige 177, — fetthaltige 181, — Gallenpigmente 181, — Kohle 183, — Lipochrome 182, — Lutein 182, — melanotische 182.
Pikrinsäure 94, — Differenziernng 120, — bei Blutpräparaten 266, — Entkalkung 54, — Kernfärbung 110, — Fixierung 44, — Hyalin 162, — nach Stengler für Tuberkelbazillen 227, — für Knochenlakunen 341.
Pikrinsäurekarmin nach Thoma 114.
Pikrinsäure-Säurefuchsin nach van Gieson 112, — Modifikation nach Hansen 113.
Pikrinschwefelsäure Kleinenbergs zum Fixieren 44.
Pikrokarmin nach Friedländer 114, — nach Orth 114, — nach Neumann 114, — nach Thoma 114.
Pilze der menschlichen Haut, Untersuchung ders. 235, — nach Boeck 235, — nach Malcolm-Morris 236, — nach Unna 235, — Färbung des Aktinomyces 233, 234, — der Aspergillen 235, — des Soorpilzes 235, — des Hefepilzes 236.
Pilzrasen, Darstellung nach Fränkel 235.
Piroplasmen des Blutes, Nachweis 244.
Pitfields, Färbung der Kapseln der Pestbazillen 219, — der Ernst-Babesschen Granula 221.
Pithyriasis versicolor Erreger dess. 234.
Planspiegel, Anwendung dess. 8.
Plasmazellen 124, 266, — Darstellung ders. mit polychromem Methylenblau 124, — nach Unna-Pappenheim 125, — mit Methylenblau 258.
Platners Verfahren zur Darstellung der Achsenzylinder peripherer Nerven 332.
Platos Färbung gonokokkenhaltigen Eiters 202.
Platinchlorid-Osmiumsäure-Eisessiggemisch nach Hermann 43.
Plattenmodelliermethode 78
Pleura 277.
Pliens (Bielschowskys) Ganglienzellenfärbung 298.
Pneumonie, Darst. des Fibrins 276. — Pneumokokken 216, — im Blut 268.
Polarisationsmikroskop 7, — zur Untersuchung von Lipoiden 154.

Polychromes Methylenblau nach Unna 124, — für Plasmazellen 124, — für Amyloid 166, — Darstellung der Haupt- und Belegzellen 279, — Markscheidenfärbung nach Fränkel 305.
Pommersche Knochenfärbung 337.
Posners Harnuntersuchung bei Dunkelfeldbeleuchtung 289.
Präpariernadeln 16.
Präzipitation von Eiweiss beim Färbeprozess 89.
Präzissionssäge nach Arndt 343.
Pranter, Resorcin-Fuchsin 140, — Orceïnpulver 143, 210.
Prostata, Nachweis der Corpora amylacea 168.
Protagone, Nachweis 154, 157.
Proteus, Darstellung dess. 219, — im Blut 268.
Protoplasmafärbungen mit Anilinfarben 109, — Ammoniakkarmin nach Honegger 109, — mit Kernfärbung kombiniert 110, — Karmin und Pikrinsäure 110, — Hämatoxylin und Eosin 111, — Hämatoxylin und Orange G 111, — Hämatoxylin und van Gieson 112, — Pikrokarmine 114.
Protoplasmastrukturen. Darst. ders. 119, — Altmannsche Granula 119, — Oxydasereaktion nach W. Schultze 121.
Protozoen, Nachweis im frischen Präparat 236, — mit Hilfe von Farblösungen 236.
Psammomkörner, Nachweis ders. 168.
Pseudodiphtheriebazillus 220.
Pseudoeosinophile Granula 264.
Pseudomucine, Unterscheidung ders. von Mucinen 159.
Pseudoochronose 183.
Pseudotuberkelbazillus 231.
Punktionsflüssigkeit, Untersuchung ders. 334.
Puppes Mazerationsflüssigkeit zur Blutuntersuchung 273.
Purinkörper, Nachweis ders. 187.
Pyocyaneus-Bacillus, Färbung 220.
Pyridin, Anw. bei der Bielschowsky-Methode 130, — bei Levaditis Spirochätenfärbung 241, — als Entwässerungsflüssigkeit bei Paraffineinbettung 68.
Pyrogallol bei Stöltzners Kalknachweis 186.
Pyrogallol-Formol nach Ramòn y Cajal zur Reduktion der Silberimprägnation 311.
Pyronin s. Methylgrün.

Quecksilberniederschläge, Beseitigung ders. 41.
Quetschpräparate, Herstellung 23.
Quinckes Schwefelammoniummethode für eisenhaltige Pigmente 178.

Rabls Fixierungsgemisch 44, — Anw. für Ganglienzellen 297.
Raissinis Mazerationsflüssigkeit für eingetrocknete Blutspuren 273.
Ramòn y Cajals Neurofibrillen, Darst. 311, — Darst. des Golgi-Holmgrenschen Apparates 124.
Ranviers Drittelalkohol 23.
Rasiermesser, Anfertigung von Schnittpräparaten 13.
Rauschbrandbazillus, Darst. 220.
Rawitz' Fixierungsgemisch 44, — Flüssigkeit zur Pigmentlösung 56.
v. Recklinghausens Silberimprägnation 99, — Darst. der Knochenhöhlen und ihrer Ausläufer 339.
Recurrensspirillen Färbung 242.
Reifen von Farblösungen 92.

Reizleitungssystem des Herzens, Darst. dess. 275.
Resorcin-Fuchsin bei Weigerts elastischer Fasernfärbung 138, — nach Pranter 140.
Respirationsapparat 276, — Sputumuntersuchung 277.
Rhinosklerombazillus, Darst dess. 218.
Rhizopoden 236.
Ribberts Modifikation der Mallory-Färbung 131, — Differenzierungsflüssigkeit zur Bakterienfärbung 207, -- Bakterienkapselfärbung 213.
Roehls Kalkfärbung 184, -- für phosphorsauren Kalk 186.
Röthigs Kresofuchsinmethode 140.
Romanowskys Färbung für Malariaplasmodien 243, — Blutfärbung 260.
Rosins Übersichtsfärbung des Nervensystems 293, — Färbung der Nisslschen Granula 298.
Ross' Lösung der Erythrocyten bei Malariaplasmodienfärbung 243.
Rossels Häminprobe an Fäzes 280.
Rossolimos Methode für Körnchenzellen im Nervensystem 321.
Rotzbazillus. Darst. dess. nach Abbot 222, -- Löffler 221, — Noniewicz 222, — Schmorl 222, — Zieler 210.
Rubaschkins Aufklebemethode 78.
Rubinsteins Anwendung der Triazidmethode 263.
Rückenmark s Nervensystem.
Rückfallfieber, Spirillen dess. 242, — im Blut 268.
Ruges Formol-Essigsäure für Malariaplasmodien 243.
Ruhr, Darst. des Erregers 219.
Russels Kolloidfärbung 163, — Fuchsinkörper 123.

Saccharomyces albicans 235.
Säurefuchsin 94.
Säurefuchsin-Anilinblau-Orange G-Färbung Mallorys für Bindegewebe 133, —— Modifikation nach Loele 135, —— Löwenstein 134, —— Wooley 134.
Säurefuchsingemisch Altmanns zur Granulafärbung 119.
Säurefuchsin-Hämatoxylinfärbung der Haupt- und Belegzellen des Magens 279.
Säurefuchsin-Methylgrün-Orangemischung nach Biondi-Ehrlich-Heidenhain 117.
Säurefuchsin-Pikrinsäure nach van Gieson 112, — Hansen 113.
Säuren, Anw. zum Kalknachweis 184.
Safranelin 140.
Safranin 95, -- zur Färbung von Amöben 237, — von Kernen 109, — Mitosen 115, — nach Schütz für Gonokokken 217.
Safranin-Anilinblaufärbung der Achsenzylinder nach Stroebe 308.
Safranin-Anilinlösung nach Babes 115.
Sahlis Methylenblaufärbung der Achsenzylinder 308.
Salpetersäure, Entkalkung 52. -- Lösungsmittel für Pigmente 56, — Reaktion auf Gallenpigmente 182, -- Lösung von Oxal- und Phosphatsteinen 288.
Salzsäure zum Kalknachweis 20, 184, — zur Entkalkung 53, — als Lösungsmittel von Pigmenten 56.
Salzsäure-Alkohol, Herstellung 90, — Differenzierung von Hämatoxylinfärbung 113, — bei Bakterienfärbung 205.
Salzsaures alkoholisches Karmin nach Mayer 107.
Samenflecken, Untersuchung zu gerichtlichen Zwecken 346.

Saures Hämatoxylin nach Ehrlich 103.
Schaffers Modifikation der Marchi-Methode 319, — Kalknachweis im Knorpel 336
Scharlach R 94, — Anw. zur Fettfärbung 157, — bei Leukocytenfärbung 251, — bei Blutpräparaten 268.
Schaudinns Spirochaete pallida, Nachweis ders. 238, — nasse Konservierung der Malariaplasmodien im Blut 243.
Schilddrüse 277, — Nachweis des Kolloids 162.
Schimmelpilze 233, 234.
Schleim, Darstellung dess. nach Hoyer 160, — bei Löwenstein 135, — bei Mallory 133, — bei Pasini 136, — nach Mayers Mucihämateïnmethode 161, — mit Mucikarmin 162, — mit Unnas polychromem Methylenblau 161, — im Darminhalt 280.
Schlittenmikrotome 69.
Schmaus-Chilesottis Achsenzylinderfärbung 306.
Schmelzer und Tirmanns Berlinerblaureaktion 179.
Schmidts Verfahren, in Formol überfixierte Stücke wieder weich zu machen 36.
Schmidts, M. B., Färbung der Hypophysengranula 332.
Schmorls Aktinomycesfärbung 234, — Amyloidfärbung 166, — Aufkleben von Paraffinserienschnitten 74, — alkoholische Origanumölmischung 78, — Färbung chromaffiner Zellen 290, — Kapselfärbung des Milzbrandbazillus 220, — Kalknachweis 185, — Knochenfibrillenfärbung 341, — Darstellung der Knochenlakunen und ihre Ausläufer 339, — Färbung der Spirochaete pallida im Schnittpräparat 241, — Untersuchung eingetrockneter Blutspuren zu gerichtlichen Zwecken 273, — Darstellung der Nieren- und Blasensteine 288, — Verfahren, gekräuselte Fettgewebsschnitte zu glätten 31, — Kapselfärbung von Bakterien 218, — Unterscheidung kalkhaltiger und kalkloser Partien am unentkalkten Knochen 341, — Thionin-Pikrinsäuremethode 341.
Schneiders Färbung von melanotischem Pigment 182.
Schnelleinbettung in Celloidin 62, — in Paraffin 67.
Schnittpräparate, Anfertigung ders. 24, — von Celloidinblöcken 59, — mittels des Doppelmessers 24, — der Gefriermethode 25, — von Paraffinblöcken 63, — mit dem Rasiermesser 24, — der Schere 24, — Aufhellung und Konservierung 79, — Aufklebemethoden 30. 31, 84, — Auspinseln und Ausschütteln 24, — Dicke der Schnitte 69, — Diffusionsströme, Einwirkung ders. 29, — Entcelloidinieren von Celloidinschnitten 82, — Färben ders. 101 ff., — von frischen Objekten 24, — von gehärteten Objekten 69, — nicht entparaffinierte Schnitte 83, — Zusammenschrumpfen ders., Verhütung nach Schmorl 31, — nach Weigert 82.
Schriddes Entfernung von Formolniederschlägen 35, — Einbettungsmethode für Blutpräparate 269, — Entkalkungsmethode für Blutpräparate 268, — Modifikation der Altmannschen Färbung zur Darstellung von Granula 120, — Anwendung für Epithelfaserung 348, — Modifikation der Giemsamethode für Schnitte 270, — Stückdurchfärbung 126.
Schrumpfnieren 287.
Schrumpfung der Gewebe beim Fixieren 37, — von Schnitten, Verhütung 31, 82.
Schüninoffs Fibrinfärbung 197, — Anwendung bei der trüben Schwellung 147, Hämatoxylin zur Hüterschen Bindegewebsfärbung 132.
Schütz' Kokkenfärbung mit Safranin 217.
Schultze, W., Oxydasereaktion 121, 266.
Schusterkugel, Anw. ders 5.
Schwefelammonium, Nachweis eisenhaltiger Pigmente nach Hall 179, — — Quincke 178, — — Tirmann und Schmelzer 179, — Zalewski 180

— zur Beseitigung von Formolniederschlägen 35, — zum Nachweis von Blei und Silber in Geweben 187.
Schwefelkohlenstoff bei Paraffineinbettung 66.
Schwefelsäure, Differenzierung bei Bakterienfärbung 212, — Kalknachweis 184, — Luteinreaktion 182, — Reinigung von Objektträgern 15.
Schweflige Säure zum Entkalken 51.
Schweinerotlaufbazillen 220.
Schwellung, trübe, 147.
Schwielen des Herzens 275.
Scolices, mikrosk. Untersuchung ders. 246.
Sedimentierung von Blut zum Parasitennachweis 268, — von Flüssigkeiten, Gewebsteile enthaltend 190, 334, 344, — von Harn 288, — tuberkelbazillenarmen Sputums 224.
Seifen 154.
Seifenglycerin-Gelatine zum Einbetten 68.
Seifenmethylenblaumethode Nissls zur Ganglienzellenfärbung 294.
Sehnenflecken des Perikards 275.
Sekretgranula, Darst. nach Heidenhain 118.
Selbstinjektion bei lebenden Tieren 98.
Serienschnitte, Anfertigung von Celloidinblöcken 74, — von Paraffinblöcken 73, — Aufklebemethoden 74, 76—78.
Sharpeysche Fasern, Darstellung ders. nach Bielschowsky 338, — Beneke 338, — Ebner 338, — v. Kölliker 338.
Sharnowskys Farblösung zur Fibrinfärbung 195.
Siebdosen zum Wässern 16.
Siegerts Corpora amylacea, Darstellung ders. 168.
Silber, Nachweis dess. in Geweben 187.
Silberammoniumnitrat, Anw. bei Bielschowsky 129.
Silberimprägnation nach v. Recklinghausen 99, — der Achsenzylinder nach Bielschowsky 310, — des Bindegewebes nach Bielschowsky-Maresch 128, — der Endothelien von Blutgefässen 99, — Geisselfäden 215, — des Nervensystems nach Golgi 313, — Ramòn y Cajal 311, — des phosphorsauren Kalkes nach v. Kossá 185, — nach Roehl 186, — nach Stöltzner 186, — der Spirochäte nach Levaditi 241, — der Sharpeyschen Fasern 338.
Silberlösung, Entfernung ders. aus dem Gewebe 129.
Silbermanns Selbstinjektion lebender Tiere 98.
Silberniederschläge, Darst. ders. 183, — Beseitigung 241.
Silbernitratlösung nach Bielschowsky 129, — nach Levaditi 241.
Smegmabazillus, Unterscheidung von Tuberkelbazillen 231.
Smith-Dietrich-Färbung 156.
Soorpilz 235.
Spalteholtz' künstliche Verdauung 24, — Verfahren zum Durchsichtigmachen menschlicher und tierischer Präparate 98.
Speichel als Lösungsmittel von Glykogen 168.
Speicheldrüsen 286.
Speisereste bei Darminhaltuntersuchung 280.
Spektralokulare 9.
Spenglers Tuberkelbazillenfärbung 227.
Sperma, Nachweis für gerichtliche Zwecke 346.
Sphingomyelin, Darst. dess. 154, 157.
Spielmeyers Markscheidenfärbung 304, — Gliamethode 324.

Spirillen, Färbung 233, — Kommabazillen 233, — Recurrensspirillen 242, — des Rückfallfiebers im Blut 268.
Spirochaete Obermeieri, Färbung 242.
Spirochaete pallida Schaudinns 238—242; — Abstrichpräparate 237, — Auffinden bei Dunkelfeldbeleuchtung 202, — Färbung nach Giemsa 238, 239, — im Blut 268, — Geisselartige Anhänge, Darst. nach Löffler 238, — Schnittpräparate 241, — Silberimprägnation nach Levaditi 241, — Tuscheverfahren Burris 240, — vitale Färbung 238.
Sporenfärbung 212.
Sprosspilze, Färbung 233.
Sputum, Sedimentierung 278, — mit Antiformin 224, 278, — Untersuchung auf Asthmakristalle 278, — elastische Fasern 278, — Geschwulstzellen 278, — Tuberkelbazillen 223, 278, — eingeatmete Stoffe 277.
Stabilit zum Aufkleben von Celloidinblöcken 61.
Stähelins Blutuntersuchungsmethode auf Spirochäten 239.
Staphylokokken 217.
Stative, mikroskopische 4.
Stärkekörner im Darminhalt 280.
Stäublis Methode für vereinzelte Blutparasiten 268.
Steinachsche Siebdosen 16.
Stephens Geisselfärbemethode 215.
Sternbergsche Modifikation der Giemsafärbung an Schnitten 271, — bei Malariaplasmodien 244.
Sternzellen 284, 285, — Verfettung 147.
Sterzyzowsky, Blutprobe an Fäzes 280.
Stiedas Reaktion auf eisenhaltiges Pigment 178.
Stillings Jodgrünfärbung auf Amyloid 167.
Stoerksches Hyalin, Darst. dess. 287.
Strähubers Achsenzylinderfärbung 309.
Strassers Methode zum Aufkleben von Serienschnitten 74.
Streptokokken 216.
Streptothrixformen der Tuberkelbazillen 230.
Stroebes Achsenzylinderfärbung 308.
Studentenmikrotom 26.
Stückdurchfärbung 126, — nach Levaditi 241, — nach Schridde 126, — Vermeidung von Formolniederschlägen 127.
Stützers Färbung der Negrischen Körperchen 245.
Sublamin-Fixierung 42.
Sublimatfixierung 40, — bei Sputum-Untersuchung 278, — für Kernstrukturen 117, — bei Schleimfärbung 160, — bei Mallory-Methode 133.
Sublimatgemische zum Fixieren: — nach Helly 41, — Zenker 41, — Sublimat-Eisessig 41.
Sublimatniederschläge, Beseitigung ders. 41.
Sudan III, 94, — Gemisch zur Fettfärbung 149, 157.
Syphilisspirochäten 238—42; s. unter Spirochaete pallida.

Takajama (Kobert), Spermareaktion 346.
Tandlers kaltflüssige Gelatineinjektion 96.
Tanninlösung bei der Ermengemschen Geisselfärbung 215, — Anw. bei Pigmentdarstellung 182.
Tänzer-Unnasche elastische Fasernfärbung 143.
Tätowierung der Haut 183.

Tauchmikrotom 14.
Teichmanns Häminkristalle 274.
v. Tellyesniczkys Essigsäurezusatz zu Formol 36.
Tetanusbazillus, Färbung 220.
Tetragenus, Micrococcus 217.
Thierschs Berlinerblaugelatine zur Injektion 97.
Thimofejews Bindegewebsfärbung 136.
Thionin 94, — zur Bakterienfärbung 204, — nach Lang 217, — Amyloidfärbung 167, — Schleimfärbung 160.
Thionin-Pikrinsäure-Methode Schmorls, für Knochenhöhlen 339.
Thionin-Phosphorwolframsäure für Knochenhöhlen 340.
Thoma, Entkalkungsmethode 53, — Pikrinsäure-Karmin 114.
Thomas Färbung chromaffiner Zellen 290.
Thromben, Untersuchung 190.
Thyreoidea 277, — Nachweis des Kolloids 162.
Thyrosin im Harn 289.
Tirmann und Schmelzers, Eisenreaktion 179.
Toldts Injektionsapparat 95.
Tollwut 244.
Toluidinblau 94, — zur Färbung der Nisslschen Körner 297, — zur Schleimfärbung 160.
Toluidinblau-sulfalizarinsaures Natrium, nach Benda zur Neurogliafärbung 326.
Toutons Karbol-Fuchsin zur Gonokokkenfärbung 217.
Trachea, mikrosk. Untersuchung 276.
Traina, Bindegewebsfärbung 136.
Trantenroth (Bunge), Unterscheidung von Tuberkel- und Smegmabazillen 232,
Trepanema pallidum s. Spirochaete pallida.
Triazidfärbung nach Ehrlich 262, — Ausstrichpräparate 263, — Schnittpräparate 270.
Triazid nach Pappenheim 263.
Trichinen, Untersuchung ders. 246.
Trichloressigsäure zur Entkalkung 53.
Trichlormilchsäure zur Darst. der Trophospongienkanälchen 124.
Trichomonas intestinalis u. vagin. 236.
Trichomyceten, Darst. 233.
Trichophyton tonsurans 234.
Trockenes Schneiden von Celloidinblöcken 70.
Tropfen, hängender 21, — bei Untersuchung von Bakterien 202, — Blut 250.
Tropfgläser 16.
Tropäolin zur Differenzierung bei Bakterienfärbungen 205.
Tropäolin-Methylenblau für Rekurrensspirillen 242.
Trophospongienkanälchen nach Holmgren 124.
Trübe Schwellung, Untersuchung auf dies. 147.
Trypanosomen, im frischen Präparat 237, — Deckglastrockenpräparat 237, — Färbung nach Giemsa 261, — undulierende Membran 237.
Trypsinverdauung zur Mazerierung 24.
Tuberkelbazillen, Anreicherungsverfahren nach Uhlenhuth mit Antiformin 224, — Ausstrichpräparate von Blut 269, — von Sputum 278, — von Fäzes 280, — von Harn 288, — Gewinnung des Materials und eventl. Anreicherung 223, — gleichzeitige Darstellung mit Mitosen 118, — mit elast. Fasern 141, — Färbung nach Czaplewski 227, — Fränkel 226, — Gabbet 226, —

Koch-Ehrlich 225, — Spengler 227, — Ziehl-Neelsen 226, — Schnittpräparate 227, — Muchsche Granula 228, — Darst. nach Much 228, — gleichzeitige Darstellung mit Tuberkelbazillen nach Hatano 229, — Weiss 229, — Wehrli und Knoll 229, — streptothrixartiges Wachstum 230, — Unterscheidung von Gras-, Lustgarten-, Pseudotuberkel- und Smegmabazillen: nach Bunge und Trantenroth 232, — Gasis 231, — Pappenheim 232, — Differenzierung von Leprabazillen nach Baumgarten 233.
Türks Methylenblau-Jodmethode für Mastzellen 264.
Turnbulls Blaureaktion 178.
Tuscheverfahren Burris auf Spirochäten 240.
Typhusbazillen 218, — im Blut 268, — in Fäzes 281.
Tyrosin-Kristalle bei Nekrose, Darst. 189.

Überleben der Zellen s. vitale Färbung.
Uhlenhuths Antiforminanreicherungsverfahren 224.
Ulcus molle, Erreger 219.
Ultramikroskop 8.
Umrahmung von Deckgläsern 84.
Undulierende Membran der Trypanosomen 237, — der Spirochäten 238.
Ungars Untersuchung auf Sperma 347.
Unnas Borax-Methylenblaufärbung 235, — Bindegewebsfärbung 137, — Epithelfasernfärbung der Haut 349, — Glastinte 17, — Elazinfärbung 144, — Elastische Fasernfärbung 143, 145, — Keratohyalinfärbung 173, — melanotische Pigmentfärbung 182, — Plasmazellenfärbung 124, — polychrome Methylenblaumethode 124, 127, — für Plasmazellen 124, — bei Schleimfärbung 161, — bei Bakterienfärbung 205, — zur Unterscheidung von Haupt- und Belegzellen 279, — bei Schnittpräparaten von Blut 270, — bei syphilitischen Veränderungen im Nervensystem 294, — Wasserblau-Orceïnlösung 174, s. auch unter Methylgrün.
Unna-Ducreyscher Streptobazillus, Färbung 210, 219.
Unna-Pappenheims Pyronin-Methylgrünmethode 125.
Urankarminfärbung der Achsenzylinder 306.
Uranylazetat bei Herxheimers Fibrinmethode 198.
Urin 288, — Untersuchung auf Tuberkelbazillen 233.
Uterus 344, — Auskratzungen 344.

Vaccinekörperchen, Darstellung 245.
Vallards Darstellung von Fett und Eisen 181.
Vanadium chloratum zur Achsenzylinderfärbung 307.
Vasogen, Anw. bei Herxheimers Keratohyalinfärbung 174.
Vastarinis, Glykogenfärbung 172.
Venen, Injektion 95, — Untersuchung 274.
Verdauung zur Mazeration 24, — nach Mall 137.
Verdauungsapparat 278, — Darminhalt 279, — Mageninhalt 279, — Untersuchung auf Parasiten 280.
Verfettung, s. u. Fett, — Cholesterinesterverfettung 158, — Glyzerinesterverfettung 158, — Lipoidverfettung 158.
Vergoldung bei der Silberimprägnation 129, 311.
Vergrösserungen 6.
Verhornung, pathologische 173, — Eleïdin 175, — Keratin 173, — Keratohyalin 173.
Verkalkung 183, — Nachweis des Kalkes 184—186.
Verocays Methode zur Entfernung von Formolniederschlägen 36, - Bindegewebsfärbung 131, — Gitterfasernfärbung in der Leber 285, — im Pankreas 285.

Versilberung von Spirochäten 241. — von Bindegewebe 129, — von Achsenzylindern 311.
de Vescovi, Vorrichtung zum Wiederauffinden bestimmter Stellen in Präparaten 9.
Vesuvelin 140.
Vesuvin 95.
Vibrio der Cholera asiatica 233.
Virchows Mazerationsflüssigkeit von Blutflecken 273.
Vitale Färbung 21, — der Bakterien 202, — der Granula der Leukocyten 250, — Malariaplasmodien 242, — Protozoen 236.
Volpino (Bertarelli) s. Bertarelli.

Wachs zum Einschliessen von Schnitten 84.
Wasserblau-Orceïnlösung nach Unna 174.
Wasserrad nach Thoma 52.
Wasserstoffsuperoxyd zum Bleichen von Pigmenten 56, — Anw. nach Schüninoff 197.
Wederhake, Färbung von Spermatozoen 347.
Wehrli und Knoll, Tuberkelbazillenfärbung 229.
Weichselbaums Meningokokkus 216, — im Blut 268.
Weidenreichs Fixierung von Blutpräparaten 254, — von Spirochätenpräparaten 239. — Anw. der Giemsafärbung 261.
Weidenreich-Hamm, Bakterienkapselfärbung 213.
Weigerts Borax-Ferricyankaliumgemisch, Markscheiden 196, — Anw. bei Roehls Kalknachweis 186, — Carbolxylol 81, — Celloidinserienschnitte, Anfertigung 74, — Chromogen-Ameisensäure-Natriumsulfitlösung zur Reduktion 323, — Elastikafärbung 138, — Anw. ders. an blutbildenden Organen 269, — bei Untersuchung von Blutgefässen 275, — zur Darst. der Trophospongienkanälchen Holmgrens 124, — Modifikation von Hart 140, — Minervini 140, — Eisenhämatoxylin zur Kernfärbung 104. — mit van Gieson nachfärbung 112, Entwässerungsverfahren bei Vermeidung von Karbol-Xylol 82. — Fibrinmethode 192, — zur Darst. von Harnzylindern 287, — von Kernkörperchen 119, — der Kupfferschen Gitterfasern 284, — bei Bakterienfärbung 207, — zur Darst. des Pilzmycels 234, — bei Pneumonie 276, — bei nekrotischen Prozessen 188, — von Blutpräparaten 269, — Modifikation von Lubarsch für Glykogen 172, — nach Kromayer-Beneke 348, — nach Unna 349, — nach Ernst 173, — Kupferbeize zum Kalknachweis 185, — Markscheidenfärbung 299, — Modifikation von Gierlich-Herxheimer 303, — von Kultschitzky-Wolters 301, — von Pal 302, — Anwendung für periphere Nerven 330, — Neurogliafärbung 322, — zur Darst. der Gallenkapillaren 282, — modifiziert nach Bartel 325, — Galesescu 325, — Nissl 326, — Spielmeyer 324.
Weissche Färbung der Tuberkelbazillen u. Muchschen Formen 229.
Westenhöffers Konservierung harnsaurer Salze 46.
Westphals Mastzellenfärbung 264.
Wickleins Berlinerblaumethode 177.
Wiesels Darstellung chromaffiner Zellen 290.
Willebrand-Lösung 258.
Wintergrünöl, zur Durchsichtigmachung von Geweben 98.
Wolters Achsenzylinderfärbung 307, — s. a. Kultschitzky.
Wooleys Modifikation der Mallory-Färbung 134.
Wrights Formol-Gelatine-Einbettung 68.
Würmer, Darst. ders. 246.

Xylol, zur Aufhellung gefärbter Präparate 112, — zum Entparaffinieren 84, — als Lösungsmittel von Kanadabalsam 80, — als Fettlösemittel 148.
Xylol-Kolophonium, Herstellung und Anwendung 296.

Yamagivas Neurogliamethode 327.
Yvons Prüfung des absoluten Alkohols 38.

Zalewskis Nachweis von Eisen 180.
Zedernholzöl 5, — bei Paraffineinbettung 66, 269.
Zeichenapparate 9.
Zeller und Henkes Schnelleinbettungsmethode 67.
Zelleinschlüsse, Darst. ders. 123.
Zellgranula, allgemeine Darst. ders. 119, — nach Altmann 119, — Galeotti 121, — Pianese 124, — Russel 123, — Schridde 120, — W. Schultzes Oxydasereaktion 122.
Zellgrenzen der Gefässendothelien, Imprägnation 99.
Zenkersche Lösung 41, modifiziert nach Helly 41.
Zentralkörperchen, Darst. ders. 118.
Zentrosomen, Darst. ders. 116, 118.
Zentralnervensystem 291—329, — s. unter Nervensystem.
Zettnows Reinigung von Objektträgern 15, — Geisselfärbung 215.
Ziel-Neelsens Tuberkelbazillenfärbung 226, 231.
Zielers Bakterienfärbung im Schnittpräparat 210, — Modifikation der May-Grünwald-Methode für Schnittpräparate 271.
Zimmermanns Färbung der Knochenlakunen 339.
Zinkchlorid zum Nachweis von phosphorsaurem Kalk nach Roehl 186.
Zirkulationsapparat, mikrosk. Untersuchung dess. 274.
Zirkulationsstörungen, Untersuchung ders. 190.
Zitronensäure, Anw. bei formolüberfixierten Geweben 36.
Zollikofers Glykogenfärbung im Blut 267.
Zucker-Dextrinlösung zum Aufkleben von Schnitten 77.
Zupfpräparate-Herst. 23, — bei atrophischen Geweben 146, — bei Geschwülsten 199.
Zylinder im Harn 288.
Zymogenkörnchen, Darst. nach Galeotti 285.

Buchdruckerei Carl Ritter G.m.b.H., Wiesbaden.

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Soeben erschien:

Normale und abnorme Entwicklung des Menschen.

Ein Hand- und Lehrbuch der Ontogenie und Teratologie

speziell für praktische Ärzte und Studierende der Medizin.

Bearbeitet von

Dr. med. **Ivar Broman,**
o. ö. Professor der Anatomie an der Universität Lund.

Mit 642 Abbildungen im Text und 8 Tafeln.

Preis gebunden Mk. 18.65.

Eine Entwicklungsgeschichte des Menschen, welche die ganze **Missbildungslehre** in so unmittelbarer Anknüpfung an die moderne Schilderung der normalen Entwicklung darstellt, fehlte seither und es sei daher ganz besonders auf dieses neue, mit über 600 Abbildungen ausgestattete Lehrbuch, das sich namentlich auch an die Praktiker wendet, besonders hingewiesen.

Die Entwicklungsgeschichte wird ja vor allem dann in den Interessekreis des Arztes gezogen, wenn derselbe nicht ausgewachsene oder missgebildete Patienten bekommt oder wenn er an unentwickelten oder abnorm entwickelten Individuen Sektionen anzustellen hat.

Es ist ohne Zweifel, dass ein kurz gefasstes und gut illustriertes Handbuch, das sowohl die normale wie die abnorme Entwicklung des Menschen nicht nur vor, sondern auch nach der Geburt behandelt, für den Praktiker ein Bedürfnis erfüllen kann, und zwar um so mehr, je ausschliesslicher dasselbe sich tatsächlich mit menschlichem Material beschäftigt.

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Grundriss

zum Studium

der

Geburtshilfe

in

achtundzwanzig Vorlesungen

und

fünfhundertzweiundneunzig bildliche Darstellungen.

Von

Geh. Med.-Rat Dr. **Ernst Bumm,**
Professor und Direktor der Universitäts-Frauenklinik der Charité in Berlin.

Siebente vermehrte Auflage.

Preis Mk. 15.—.

Aus Besprechungen:

Gern folge ich der Aufforderung, vorliegendes Werk hier anzuzeigen; es ist eine Freude, ein neues, originelles und verdienstvolles Stück Arbeit vollendet zu sehen. Das Neue finde ich in den bildlichen Darstellungen. Wenn man mit kritischem Blick unsere modernen, dem Unterricht dienenden Bücher durchstudiert, so fällt der Unterschied der technischen Herstellung der Abbildungen sehr in die Augen und nicht immer zugunsten der Deutschen; die Schönheit z. B. der Zinkographien in Kellys Operative Gynecology überraschte uns alle; die sprechende Wahrheit der Bilder liess es uns schmerzlich empfinden, dass solch Werk nur in Amerika möglich sei. Das ist nun vorbei: Bumms Grundriss beweist zu unserer grossen Befriedigung, dass es auch bei uns möglich ist, gleich Vollendetes zu leisten.

Bumm vereinigte die, fast möchte man sagen, hinreissende Schönheit der Abbildungen mit einer sehr grossen Zahl: fast auf jeder Seite ein Bild. . . . . .

. . . Niemand wird das Werk unbefriedigt aus der Hand legen; dem Verf. wünschen wir, dass er nicht nur durch Herausgabe, sondern auch durch den Erfolg dauernd Befriedigung empfinden möge.

Centralblatt f. Gynäkologie.

Kaum 8 Jahre sind verflossen, seit Bumm mit seinem Grundriss der Ärztewelt ein Buch geschenkt hat, welches in seiner Eigenart bis jetzt unerreicht dasteht, insbesondere was den illustrierten Teil anlangt. Wenn der Anschauung in der Medizin überhaupt Rechnung getragen werden muss, so ist dies besonders in der Geburtshilfe der Fall, und dieser Zweck ist eben in dem Bummschen Grundriss, der seit dieser kurzen Zeit schon in VI. Auflage vorliegt, in vollkommener Weise erreicht worden. Ich habe den Inhalt dieses Buches, die Anlage des ganzen Werkes gelegentlich der I. Auflage in dieser Zeitschrift (1903, Heft 4) so genau besprochen, dass ich bezüglich hierauf verweisen kann, und beschränke mich darauf, hervorzuheben, was inzwischen neu hinzugekommen ist und inwiefern ich ebensowohl für den Praktiker wie den beamteten Arzt das Buch ganz besonders empfehlen möchte . . . .

Zeitschr. f. Medizinalbeamte.

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Soeben erschien:

Winke für den ärztlichen Weg

aus zwanzigjähriger Erfahrung.

Von

Dr. **Georg Knauer** in Wiesbaden.

Preis Mk. 2.—.

Die anatomischen Namen

ihre Ableitung und Aussprache.

Von Professor Dr. **H. Triepel** in Breslau.

Dritte verbesserte Auflage.

Preis Mk. 2.40.

Einführung

in die

Physikalische Anatomie.

Von

Professor Dr. **Hermann Triepel** in Breslau.

I. Teil: Allgemeine Elastizitäts- und Festigkeitslehre in elementarer Darstellung.

II. Teil: Die Elastizität und Festigkeit der menschlichen Gewebe und Organe.

Mit 23 Figuren im Text und 3 lithographierten Tafeln.

Preis Mk. 6.—.

Der durch zahlreiche sorgfältige Arbeiten schon bekannte Verfasser, ein Schüler Bonnets, behandelt hier die Elastizität und Festigkeit der menschlichen Gewebe und Organe. Eine elementare Darstellung der allgemeinen Elastizitäts- und Festigkeitslehre ist vorangestellt. Für den Chirurgen sind solche Studien von hohem Wert, und es sind auch von chirurgischer Seite schon Einzelstudien auf diesem Gebiete gemacht, welche vom Verfasser zum Teil herangezogen werden; andere z. B., die Studien Stubenrauchs in München über die Harnblase, sind nicht berücksichtigt, wie denn auch die den Chirurgen interessierende physikalische Beschaffenheit der Leber, Milz, Niere, Lunge usw. unbesprochen blieb. Natürlich nehmen die Extremitätengewebe, Knochen, Knorpel, Muskeln, Sehnen, Bindegewebe den Hauptanteil der Arbeit ein. Es ist als Verdienst dem Verfasser anzurechnen dass er mit seinem Buch eine klare und sichere Grundlage für weitere und speziellere Arbeiten geschaffen hat. *Helferich i. d. Zeitschr. f. Chirurgie.*

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Lehrbuch
der
Histologie des Menschen
einschliesslich der
Mikroskopischen Technik
von

A. A. Böhm, Prosektor und **M. v. Davidoff,** vorm. Assistent
am Anatomischen Institut zu München.

Dritte umgearbeitete Auflage.

Mit 246 Abbildungen. — Preis Mk. 7.—, geb. Mk. 8.—.

Von diesem Buche liegt bereits die dritte Auflage vor, ein Beweis für die Brauchbarkeit des Werkes, trotz der Konkurrenz des Stöhr. Aber beide Werke haben ja ihre Eigenart und in dieser neben kleinen Schattenseiten ihre Vorzüge. Das Buch von Böhm und v. Davidoff enthält mehr Einzelangaben histologischer und mikroskopischer Art als das von Stöhr; ersteres ist zum Teil mehr eine mikroskopische Anatomie der Organe. — aber wo ist die Grenze zwischen dieser und der eigentlichen Histologie oder Gewebelehre? Freuen wir uns, dass wir mehrere so vorzügliche Bücher über diese schwierigen und interessanten Gebiete besitzen. und dass wir durch das abwechselnde Erscheinen von Auflagen dieses und jenen Werkes stets das Neueste vor uns sehen.

So haben auch in der vorliegenden dritten Auflage an zahlreichen Stellen die Ergebnisse neuerer Untersuchungen Berücksichtigung gefunden. Ferner wurden zwanzig neue Abbildungen eingefügt. Bei der Revision des Textes wurde auch die Baseler Nomenklatur der Anatomischen Gesellschaft berücksichtigt.

Die Ausstattung ist sehr gut, der Preis niedrig. *Anatomischer Anzeiger.*

Von dem bekannten und allseits geschätzten Lehrbuche ist vor kurzem eine neue Auflage erschienen. Die Autoren haben entsprechend den Resultaten neuerer Untersuchungen eine Reihe von Änderungen vorgenommen, vor allem eine grössere Anzahl neuer Abbildungen beigefügt. Es ist kaum zweifelhaft, dass dieses Buch auch in Zukunft grosse Erfolge haben wird. *Wiener med. Wochenschrift.*

Taschenbuch
der
Medizinisch-klinischen Diagnostik.
Von

Dr. **Otto Seifert,** Professor in Würzburg und Dr. **Friedr. Müller,** Professor in München.

Vierzehnte, gänzlich umgearbeitete Auflage.

Mit zahlreichen teilweise farbigen Abbildungen. Geb. Preis Mk. 4.50.

Das ausgezeichnete und unglaublich reichhaltige Büchlein von Seifert und Müller liegt bereits in der 14. Auflage vor.

„Das Buch soll nicht nur dem Anfänger die Grundzüge der Untersuchungsmethoden in leicht fasslicher Form einprägen, sondern auch dem Praktikanten, Assistenten und dem Arzt eine Hilfe sein bei der Krankenuntersuchung.

Es soll hauptsächlich zum Nachschlagen dienen, es will und darf nicht die ausführlichen Lehrbücher der Diagnostik entbehrlich machen. Würde es diesen Anspruch erheben, so würde es mehr Schaden als Nutzen stiften."

Es gibt wenige Bücher, die dem, was sie sollen, in so hohem Maße gerecht werden. Eine Empfehlung dieses klassischen Werkchens, das seit 1886 14 Auflagen erlebt hat, ist wirklich überflüssig.

Volhard-Mannheim in Münchner med. Wochenschrift.

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Kursus

der

Pathologischen Histologie

mit einem

Mikroskopischen Atlas

von 28 Lichtdruck- und 8 farbigen Tafeln.

Von

Prof. Dr. L. Aschoff, in Freiburg.

und

Dr. H. Gaylord, Prof. d. chirurg. Pathologie u. Direktor d. staatl. Instituts f. Krebsforschung d. Universität Buffalo.

Preis geb. M. 18.—.

Das hervorragend schön ausgestattete Werk besteht aus einem mikroskopischen Atlas und einem beschreibenden Text (340 S.). Die Bilder sind mittelst einer vollendeten Technik so naturgetreu dargestellt, dass sie hierin und an Schärfe kaum zu übertreffen sind. Bei eingehender Betrachtung empfiehlt sich sogar der Gebrauch einer Lupe. Der beschreibende Text zu den Bildern und der Leitfaden für die Herstellung der Schnitte, bezw. Aufstriche lassen an Klarheit und Uebersichtlichkeit nichts zu wünschen übrig. Auch als Nachschlagewerk ist das reichhaltige Buch geeignet, da es ein umfängliches Literaturverzeichnis über neuere Fragen von Bedeutung enthält. *Schmidt's Jahrbücher.*

Handbuch

der

Embryologischen Technik

von

Dr. med. Paul Röthig,

früher Assistent am anatomisch-biologischen Institut Berlin.

Mit 34 Abbildungen im Text.

Preis M. 10.60.

Röthig, der jahrelang Assistent an dem Anatomisch-Biologischen Institut in Berlin unter Geheimrat Oskar Hertwig war, wendet sich in diesem Buche, wohl dem ersten dieser Art in Deutschland, an alle, die speziell embryologisch arbeiten wollen, indem er die Kenntnis der hauptsächlichsten mikroskopischen Forschungsmethoden voraussetzt. Verfasser gibt eine möglichst vollständige und eingehende Darstellung aller bisher veröffentlichten embryologischen Methoden, grösstenteils auf Grund eigener Erfahrungen aus seiner mehr als fünfjährigen Assistententätigkeit. Die umfangreiche Literatur ist am Schlusse der einzelnen Kapitel zusammengestellt. Ueberhaupt ist das Buch praktisch angeordnet, gut ausgestattet und nicht teuer. *Deutsche med. Wochenschrift.*

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Urologische Operationslehre.

Von

Dr. **Rudolf Oppenheimer**
in Frankfurt a. M.

Mit 113 Abbildungen im Text und 12 zum Teil farbigen Tafeln.

Preis gebunden M. 24.—.

Inhalt:

Untersuchung der Harnorgane. — Vorbereitung des Kranken. — Vorbereitung des Operateurs. — Anästhesie. — Instrumente. — Wundbehandlung. Nachbehandlung. — Chirurgie der Nieren. — Chirurgie des Nierenbeckens. — Chirurgie der Nebennieren und der Nierenkapsel. — Chirurgie des Ureters. — Chirurgie der Blase. — Chirurgie der Prostata und Samenblasen. — Chirurgie der Harnröhre. — Chirurgie des Penis. — Chirurgie des Samenstranges, des Hodens, Nebenhodens und ihrer Hüllen.

Auszüge aus Besprechungen:

. . . . Sein Buch ist ein Markstein in der Entwickelung der Urologie. die sich ja eine gewisse Selbständigkeit als medizinische Spezialwissenschaft mit Recht erstritten hat; es ist die erste deutsche Darstellung einer urologischen Operationslehre. — Das Buch wird nicht nur die Spezialisten interessieren, sondern ebensosehr die Chirurgen, da es eine rasche und sichere Orientierung über die Methodik der Operationen an den Harn- und Sexualorganen ermöglicht. Die Ausstattung des Buches ist eine vorzügliche und ein genaues Inhaltsverzeichnis ermöglicht rasches Auffinden des Gewünschten.
Korrespondenzblatt f. Schweizer Ärzte.

Somit erfüllt das Buch seinen Zweck, nicht nur dem angehenden Urologen ein Führer zu sein, sondern auch dem in der Chirurgie der Harnorgane weniger erfahrenen Chirurgen oder Gynäkologen seine Aufgabe zu erleichtern. Was die illustrative Ausgestaltung des Buches betrifft, so ist dieselbe als glänzend gelungen zu bezeichnen. In dankenswerter Weise hat sich die Verlagsbuchhandlung Bergmann um eine geradezu künstlerische Ausstattung des Buches bemüht. *Prager med. Wochenschr.*

. . . . Das gesamte Werk ist übersichtlich, klar, präzise, in anregendem Tone geschrieben und zeichnet sich durch Vollständigkeit, dabei durch treffliche Kürze und leicht fassliche Form aus. Den inhaltlichen Vorzügen reiht sich der instruktive Bildschmuck und die gute Ausstattung des Buches an, dem wir eine baldige zweite Auflage wünschen. *Deutsche Med.-Zeitung.*

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Lehrbuch

der

Ohren-, Nasen- und Kehlkopfkrankheiten.

Nach klinischen Vorträgen für Studierende und Ärzte

von

Dr. Otto Körner,

o. ö. Professor der Medizin und Direktor der Universitäts-Ohren- und Kehlkopf-Klinik in Rostock.

Zweite, völlig umgearbeitete und vermehrte Auflage des Lehrbuches der Ohrenheilkunde.

Mit 200 Textabbildungen und 1 Tafel.

Preis geb. Mk. 10.60.

Aus Besprechungen:

Das namentlich für die Ärzte der allgemeinen Praxis und für angehende Ohren-, Hals- und Nasenärzte geschriebene Buch gibt in äusserst klarer und übersichtlicher Weise eine umfassende Abhandlung dieser drei modernen Disziplinen der Heilkunde. — Körner, als langjähriger Praktiker und Vorstand der mustergültigen Ohren- und Halsklinik in Rostock und als unermüdlicher Forscher, konnte in seinem Lehrbuche, gestützt auf seine klinischen Erfahrungen und Beobachtungen, und die gesamte Literatur bis zur letzten Zeit rastlos kritisch durchsichtend, wenn auch streng subjektiv schreibend, doch jedem Arzte durchaus zuverlässigen Aufschluss erteilen. Am besten und eingehendsten ist wohl derjenige Teil, welcher über die Ohrenheilkunde handelt; nimmt er doch mehr als die Hälfte des 408 Seiten umfassenden Buches ein! Zahlreiche vorzügliche und wirklich nur nützliche Abbildungen erleichtern das Verständnis des übrigens durchwegs klaren und leichtverständlichen Textes. Der bekannte Verlag von Bergmann in Wiesbaden hat auch diesem Buche eine tadellose Ausstattung gegeben. Der Preis ist ein sehr bescheidener, und muss das Buch allen Kollegen warm empfohlen werden. *Korrespondenzblatt für Schweizer Ärzte.*

Den in den letzten Jahren vielfach hervorgetretenen Bestrebungen nach Vereinigung der Otologie, Rhino-Pharyngologie und Laryngologie sowohl in der spezialistischen Praxis als auch im klinischen Unterricht glaubte K. dadurch Rechnung tragen zu sollen, dass er in der zweiten Auflage seines Lehrbuches der Ohrenheilkunde neben dieser auch die anderen obengenannten Spezialfächer zur Darstellung brachte. Auch in dieser neuen Auflage seines Buches berücksichtigt Verf. im wesentlichen die Bedürfnisse der Studierenden und Allgemeinpraktiker, und dementsprechend ist alles das, was jeder Arzt von Ohren-, Nasen- und Kehlkopfkrankheiten wissen und können muss, ausführlich behandelt. Das günstige Urteil, das Ref. bei Besprechung der ersten Auflage (diese Wochenschr., 1907, Nr. 32) über K.'s Buch abgeben konnte, gilt in vollem Maße auch für die vorliegende neue Auflage.

Berliner Klinische Wochenschrift.

I

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Die

Untersuchungsmethoden und Erkrankungen der männlichen und weiblichen Harnorgane

für Ärzte und Studierende

in XVII Vorlesungen

von

Dr. L. Burkhardt,
a. o. Professor für Chirurgie u. I. Universitätsassistent an der chirurg. Klinik in Würzburg.

und

Dr. O. Polano,
Privatdozent für Geburtshilfe u. Gynäkologie und Oberarzt an der Universitäts-Frauenklinik in Würzburg.

Mit 105 Abbildungen im Text und drei farbigen Tafeln.

—— Geb. Mk. 10.—. ——

. . . Knapp und präzis in der Ausdrucksweise, dabei doch klar und in anregendem Ton geschrieben, gehören die Ausführungen der beiden Autoren zu dem Besten, was seit langem auf diesem Gebiete gebracht worden ist. Das Buch spricht für sich. ein grosser Leserkreis ist ihm gewiss. Man kann den Verff. aufrichtig gratulieren. *Casper-Berlin, Zeitschrift f. Urologie.*

. . . Wirklich hervorragend sind die dem Texte beigefügten zahlreichen Abbildungen, auch die auf drei Tafeln am Schlusse des Buches aufgeführten cystoskopischen Bilder sind wohl gelungen, überhaupt verdient die buchhändlerische Ausstattung, sowie der Druck des Werkes ungeteilten Beifall. Die Anschaffung des schönen Werkes ist allen Kollegen aufs wärmste zu empfehlen.

Jenckel-Göttingen, Deutsche Zeitschrift f. Chirurgie.

. . . Es ist kein Zweifel, dass die Zusammenstellung der Krankheiten der weiblichen Harnorgane sehr gut in dem Buche gelungen ist. und dass das Buch eine vortreffliche Ergänzung der gynäkologischen Lehrbücher genannt werden muss. Nicht nur dem Studierenden, sondern namentlich den Praktikern wird das Buch sehr willkommen sein. *Fritsch-Bonn, Zentralblatt f. Gynäkologie.*

Die Aufgabe, welche sich die Verff. mit der Herausgabe dieses Buches stellten, eine Übersicht über die Krankheiten der Harnorgane sowie ihre Untersuchungsmethoden zu geben, ist in vollkommen einwandsfreier Weise gelöst. Das den persönlichen Erfahrungen der Verff. zur Verfügung stehende Material stammt aus der chirurgischen Klinik und aus der Universitäts-Frauenklinik. Das für Studierende und Ärzte bestimmte Buch, das mit den besten Abbildungen ausgestattet ist. wird sich viele Freunde erwerben. Die Ausstattung ist eine wirklich vornehme.

Seifert-Würzburg, Zentralblatt f. innere Medizin.

. . . Das wirklich vorzügliche Buch wird meiner Meinung nach jedem Lehrer vorbildlich dafür sein können, wie eine Darstellung des grossen Gebietes der Urologie in trefflicher Kürze und leicht fasslicher Form den Hörern geboten werden kann. Bei diesen Vorzügen darf dem Werke eine weitere Verbreitung mit Recht vorausgesagt und gewünscht werden.

Kielleuthner-München, Münchener med. Wochenschrift.

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Soeben erschien:

Die Krankheiten der Harnorgane.

Mit besonderer Berücksichtigung

ihrer Diagnose und Therapie.

Von

Dr. Rudolf Jahr in Berlin.

Mit 140 Abbildungen im Text.

Preis Mk. 9.—, geb. Mk. 10.20.

Auszug aus dem Inhaltsverzeichnis.

Allgemeiner Teil: 1. Anamnese. 2. Symptomenanalyse. 3. Beziehungen von Hautkrankheiten zu anderen Organen. 4. Fieber bei Harnkrankheiten. 5. Harnuntersuchung. 6. Verhütung von Infektionen in der Urologie. 7. Untersuchungsmethoden der Harnröhre und Prostata. 8. Untersuchungsmethoden der Blase. 9. Untersuchungsmethoden der Nieren. 10. Untersuchungsmethoden der Harnleiter.

Spezieller Teil: 1. Die Krankheiten der Harnröhre. 2. Die Krankheiten der Prostata. 3. Die Krankheiten der Blase. 4. Die Krankheiten der Nieren, Nierenbecken und Harnleiter.

Die Krankheiten der Mundhöhle und der oberen Luftwege bei Dermatosen

mit Berücksichtigung der

Differentialdiagnose gegenüber der Syphilis.

Von

Dr. Gottfried Trautmann in München.

Zweite umgearbeitete und erweiterte Auflage.

Mit 41 Tabellen und 12 Abbildungen.

Preis Mk. 18., gebunden Mk. 19.60.

Aus dem Vorwort zur zweiten Auflage.

Seit dem Erscheinen der ersten Auflage dieses Buches, das ich damals unter dem Titel „Zur Differentialdiagnose von Dermatosen und Lues bei den Schleimhauterkrankungen der Mundhöhle und oberen Luftwege" der Öffentlichkeit übergab, hat sich das allgemeine Interesse für die Erkrankungsformen, welche die Dermatosen auf den Schleimhäuten machen, gesteigert. Hand in Hand hiemit aber ist die Literatur gewaltig angeschwollen, so dass ich diese bei der Neubearbeitung entweder ganz in den Hintergrund treten lassen, oder soweit dies möglich war, zur Grundlage eines grösseren Werkes nehmen musste. Ich entschied mich für das Letztere. . . . .

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Die Methodik

der

Stoffwechseluntersuchungen.

Von

Prof. Dr. **L. Mohr** und Oberarzt Dr. **H. Bouttenmüller**
in Halle a. S.

Mit 20 Abbildungen. Preis Mk. 4.40, geb. Mk. 5.40.

Aus Besprechungen:

M. und B. haben die dankenswerte Aufgabe übernommen, die mannigfachen, bei Stoffwechseluntersuchungen gebräuchlichen Arbeitsmethoden in einem kurzgefassten Nachschlagebuche zusammenzustellen. Vorzugsweise solche Methoden haben Aufnahme in das Buch gefunden, die „unbeschadet ihrer Exaktheit möglichst einfach sind und an die technischen Fertigkeiten des Untersuchers nnd die Ausstattung des Laboratoriums möglichst geringe Anforderungen stellen". Berücksichtigt sind die Methoden von Stoffwechseluntersuchungen jeglicher Art (Gas-, Eiweiss-, Salz- und Wasserstoffwechsel), die Methoden der Analyse des Harns und der Fäces, der Nahrung, des Blutes. Ausserdem sind dem Buche wertvolle Übersichtstabellen über die Zusammensetzung verschiedener Nahrungsmittel, Verbrennungswerte usw. beigegeben. Das hübsch ausgestattete Buch, das auch einige erläuternde Abbildungen enthält, dürfte sich, zumal bei der elementaren Fassung des Textes, bald viele Freunde erwerben. *Schmidts Jahrbücher der Medizin.*

Es war ein guter Gedanke der Autoren, in einer Zeit, in der das Interesse an klinischen Stoffwechseluntersuchungen sehr rege ist, und in der — wir erinnern nur an den augenblicklichen Stand der Gichtfrage — diese nicht nur diagnostische, sondern auch therapeutische Bedeutung besitzen, die gebräuchlichsten Methoden in übersichtlicher Form und in klarer Darstellung zusammenzufassen. Das Büchlein ist auch für den chemisch weniger Gewandten geschrieben, dem nicht immer in eingerichteten Laboratorien der Lehrer hilfreich zur Seite steht und der sich vieles mühsam autodidaktisch aneignen muss. Gerade darin erblicken wir seinen Hauptwert, und wir zweifeln nicht, dass es reiche Verbreitung finden wird, zumal seit fast zwei Dezennien ein kompendiöses Büchlein auf gleichem Gebiet nicht erschienen ist. *Deutsche Mediz. Wochenschrift.*

Das vorliegende Buch gibt in sehr kurzer und übersichtlicher Darstellung die hauptsächlichsten Methoden der Stoffwechseluntersuchungen. Zuerst werden die allgemeinen Versuchsbedingungen erläutert, dann folgen die Methoden der chemischen Analyse des Harns, der Fäces, der Nahrung und des Blutes. Als Anhang sind ausführliche Tabellen über elementare Zusammensetznng und Kalorienwert der Nahrung, ihren Mineralstoff-, Purinbasen-, Oxalsäure-, Kochsalzgehalt etc. beigefügt. Man merkt überall, dass das Buch aus reicher praktischer Erfahrung hervorgegangen ist. Es kommt vor allem den Bedürfnissen des Anfängers und Ungeübten entgegen und ist daher für diesen den viel ausführlicheren, aber naturgemäss weniger übersichtlichen grossen Handbüchern bei weitem vorzuziehen. Es füllt so tatsächlich eine Lücke in der Literatur aus. *Münchener Mediz. Wochenschrift.*

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Soeben erschien:

Die

Funktionsprüfung des Magens nach Probekost

mit besonderer Berücksichtigung

ihrer diagnostischen Verwertbarkeit auf Grund klinischer und experimenteller Untersuchungen

von

Dr. **G. Lefmann** in Heidelberg.

Preis Mk. 2.40.

Aus dem Inhalt:

Technik der Funktionsprüfung. — Verwertbarkeit der Probekost zur Sekretionsprüfung auf Grund von Tierexperimenten. — Untersuchung des ausgeheberten Mageninhaltes. — Diagnostische Verwertbarkeit der Ergebnisse der Funktionsprüfung des Magens nach Probemittagsmahlzeit. — Differentialdiagnose zwischen organischen und funktionellen Erkrankungen des Magens auf Grund der Ergebnisse der Probemahlzeit. — Entstehung des Salzsäuredefizits beim Magenkrebs und die Frühdiagnose des Magenkrebses. — Einfluss anderer Erkrankungen auf die Säureverhältnisse des Magens. — Motorische Funktion des Magens. — Versuche über die Motilität des Magens. — Technik der Motilitätsprüfung. — Magenerweiterung. — Ursachen der Mageninsuffizienz. — Diagnostische Verwertbarkeit der Motilitätsprüfung. — Gesteigerte Motilität des Magens.

Funktionelle Diagnostik und Therapie der Erkrankungen des Herzens und der Gefässe.

Von

Prof. Dr. **August Hoffmann** in Düsseldorf.

Mit 109 Abbildungen und 1 farbigen Tafel.

Preis: geheftet Mk. 12.—. Gebunden Mk. 13.20.

In dem ersten, ausführlichsten Abschnitt des vorliegenden Lehrbuchs, in der Allgemeinen Diagnostik hat Hoffmann eine ganz vortreffliche Darstellung der heute so zahlreichen Untersuchungsmethoden des Herzens und der Gefässe gegeben. Sie ist die vollständigste, welche dem Referenten bekannt ist. Überall hat man die Empfindung, dass ein vielerfahrener Arzt mit guter, zuverlässiger Kritik die Methoden schildert und ihren Wert bespricht. Eingehende Literaturangaben und vortreffliche Abbildungen erhöhen den Wert der Darstellung. . . .

Romberg, i. d. Deutschen med. Wochenschrift.

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Soeben erschien:

Die klinische Untersuchung Nervenkranker.

Ein Leitfaden

der allgemeinen und der topischen und eine synotopische Zusammenstellung der speziellen Diagnostik der Nervenkrankheiten für Studierende und praktische Ärzte

nach Vorlesungen von

Dr. Otto Veraguth,

Nervenarzt, Privatdozent der Neurologie an der Universität Zürich.

Mit 102 teils farbigen Textabbildungen und 44 Schematen und Tabellen.

Preis gebunden Mk. 10.65.

Zweck dieses Buches ist: Einführung in die theoretisch immer interessanter und praktisch immer wichtiger werdende Nervenheilkunde.

Eine solche Bestimmung verlangte Ausführlichkeit in der Behandlung der Untersuchungstechnik mit möglichst jeweiligem Hinweis auf die physiologische, anatomische und physio-pathologische Begründung der optimalen Untersuchungsbedingungen und eine Darstellung der Lehren der topischen Diagnostik nach Gesichtspunkten, die vom Schema weg zum selbständigen Erfassen weisen.

Von besonderem Wert für die Praxis wird auch der III. Teil des Werkes sein, der eine die rasche und sichere Diagnose sehr fördernde synoptische Zusammenstellung der speziellen Diagnostik der Nervenkrankheiten darbietet und alle wesentlichen Punkte mit einem Blick überschauen lässt.

Aus dem Bestreben, dem frisch an das Gebiet Herantretenden möglichst umfassende, aber in sich geschlossene Vorstellungsbilder zu bieten, sind etwelche Eigentümlichkeiten des Buches entstanden: Einfügung von bisher in Neurologiebüchern noch nicht behandelten Themen und von neuen Darstellungen altbekannter Tatsachen.

Dem Charakter eines Einführungsbuches zuliebe sind viele anatomische Bilder, auch über die peripheren Nerven beigegeben worden.

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Lehrbuch

der

Nachbehandlung nach Operationen.

Bearbeitet von

Prof. Dr. **Paul Reichel** in Chemnitz.

Zweite umgearbeitete und vermehrte Auflage.

Mit 67 Abbildungen im Text. — Preis geb. Mk. 12.—.

Auszüge aus Besprechungen:

Ein Buch liegt vor uns, das jedem Chirurgen, zumal aber den jungen, willkommen sein wird. Nur wer weiss, wie Komplikationen, die nach scheinbar einfachen Operationen zuweilen auftreten, dem Operateur schwere Stunden bereiten können, der wird ein Werk, wie das von Reichel recht zu schätzen wissen. Nach allen Seiten hin vollständig, gibt dasselbe nicht nur als Lehrbuch, sondern auch als sehr übersichtliches Nachschlagewerk eine gute Orientierung einerseits über die Art der komplizierenden Erscheinung und andererseits über das weitere Vorgehen, die Nachbehandlung . . . .

. . . Es ist Reichel gelungen, einem vielfachen Bedürfnis nachzukommen. Ich möchte speziell auf die Kapitel über die Nachbehandlung der Schädeloperationen, die der Nasen-, Stirn-, Kiefer- und Mundhöhle, diejenigen nach Laparotomien hinweisen; in ebenso ausführlicher Weise behandelt Verfasser das Verhalten nach gynäkologischen Operationen . . . .

Korrespondenzblatt für Schweizer Aerzte.

Durch die Neuauflage des vorzüglichen Werkes von Reichel über die Nachbehandlung nach Operationen ist eine grosse Lücke in unserer Literatur ausgefüllt worden. Es ist dies Lehrbuch nicht nur für den jungen Assistenten an der Klinik unentbehrlich, sondern es stellt auch ein zuverlässiges Nachschlagewerk dar für alle die praktischen Aerzte, die in die Lage kommen, selbständig Verletzte zu behandeln oder grössere und kleinere chirurgische Eingriffe auszuführen, ohne dass sie aus lokalen Gründen sich Rats erholen können bei Meistern des Faches . . . .

. . . Die Anschaffung des fesselnd geschriebenen Werkes, das von dem Verlage sehr gut illustriert ist, wird der Ärztewelt warm empfohlen.

Therapeutische Monatshefte.

. . . Es ist eine Freude, sich von der auf allen Gebieten reichen praktischen Erfahrung des Verfassers leiten zu lassen und seiner Kritik der verschiedenen Methoden der Nachbehandlung zu folgen. Die Ausstattung des Werkes, welches eine grosse Anzahl klarer, in Holzschnitttechnik ausgeführter Abbildungen enthält, lässt nichts zu wünschen übrig. *Aerztliche Sachverständigen-Zeitung.*

. . . Reichel gibt für jeden einzelnen Eingriff sehr ausführliche Vorschriften und berücksichtigt jede mögliche Komplikation auf das sorgfältigste. In mancher verzweifelten Situation, in der nach wohlgelungener Operation unvorhergesehene Störungen sich einstellen und dem Arzte oft tagelang psychische Qualen verursachen, wird man das R'sche Buch mit gutem Erfolg zu Rate ziehen. Es kann aufs wärmste empfohlen werden.

Münchener med. Wochenschrift.

Verlag von J. F. Bergmann in Wiesbaden.

Soeben erschien:

Spezielle
Diagnostik und Therapie

in kurzer Darstellung mit Berücksichtigung aller Zweige der praktischen Medizin.

Bearbeitet von

Prof. Dr. **J. Arneth**-Münster i. W., Dr. **H. Beuttenmüller**-Bad Liebenstein, Prof. Dr. **E. Bloch**-Freiburg i. B., Prof. Dr. **F. Fromme**-Berlin, Stabsarzt Dr. **W. Guttmann**-Mülheim-Ruhr, Oberstabsarzt Dr. **H. Hasenknopf**-Strassburg, Sanitätsrat Dr. **Max Joseph**-Berlin, Primärarzt Dr. **H. Kaposi**-Breslau, Oberstabsarzt Prof. Dr. **F. Kayser**-Cöln, Geh. Sanitätsrat Prof. Dr. **E. Leser**-Frankfurt a. M., Prof. Dr. **J. Raecke**-Frankfurt a. M., Prof. Dr. **F. Schleck**-Göttingen, Prof. Dr. **S. Schoenborn**-Heidelberg, Dr. **Max Senator**-Berlin, Prof. Dr. **L. W. Weber**-Göttingen.

Herausgegeben von

Stabsarzt Dr. **Walter Guttmann**
in Mülheim-Ruhr.

Preis gebd. Mk. 10.65.

Das vorliegende Buch ermöglicht auf allen Gebieten der praktischen Medizin eine schnelle Orientierung über diagnostische und therapeutische Fragen und ersetzt so die, einzelne Zweige der Medizin behandelnden Kompendien. Die grosse Ausdehnung des behandelten Stoffes machte prägnante Kürze in der Darstellung erforderlich. Dieses Postulat ist von den Autoren und dem Herausgeber in durchaus befriedigender Weise erfüllt worden. Dem Praktiker ist die Anschaffung des Buches sehr zu empfehlen. Er wird besonders aus den therapeutischen Massnahmen wertvolle Angaben für seine Tätigkeit finden, da nur solche Heilverfahren erwähnt sind, die auf Grund eigener Erfahrungen der Verfasser empfehlenswert erscheinen. Im Rezeptanhang sind bewährte Rezepte, nach ihren Wirkungen geordnet, zusammengestellt, die bei verschiedenen Krankheiten zur Anwendung kommen.

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Lehrbuch

der

Physiologischen Chemie

von

Olof Hammarsten,

ehem. o. ö. Professor der medizinischen und physiologischen Chemie an der Universität Upsala.

Siebente völlig umgearbeitete Auflage.

Preis Mk. 23.—, geb. Mk. 25.40.

—

Die schnelle Aufeinanderfolge der einzelnen Auflagen — der 6. Auflage folgt nach Verlauf von kaum $2^1/_2$ Jahren nunmehr die siebente — ist das beste Zeichen, wie grosser Wertschätzung sich das Hammarstensche Lehrbuch allgemein erfreut. Man kann aber auch wohl sagen, dass kein anderes in so übersichtlicher und so klarer, leicht verständlicher Form die mitunter recht schwierige Materie behandelt wie dieses. Die vielfachen neu vorgenommenen Änderungen in der Anordnung des Stoffes, wie beispielsweise die Vereinigung des Kapitels der Nukleïnsäuren und der Purin- und Pyrimidinbasen mit dem der Nukleoproteïde zu einem einzigen Kapitel und ferner die Verschmelzung der Phosphatide mit den Fetten, sind dem Ganzen nur von Nutzen gewesen. Dabei haben überall die neuesten Forschungsergebnisse eingehendste Berücksichtigung gefunden. Ganz neu hinzugekommen ist ein vorzügliches Kapitel, „Physikalische Chemie in der Biologie“ aus der gewandten Feder des aus seinen Arbeiten rühmlichst bekannten schwedischen Forschers S. G. Hedin, das, was Sachlichkeit und Klarheit in der Darstellung anbetrifft, in keiner Weise den andern nachsteht. So wird dieses Buch auch in seiner neuen Gestalt von allen, die auf dem Gebiete der physiologischen Chemie eines zuverlässigen Ratgebers bedürfen, wieder mit Freuden begrüsst werden. *Berliner klin. Wochenschrift.*

Die 7. Auflage des altbekannten Lehrbuches hat wesentliche Umänderungen erfahren. Allenthalben sind die notwendigen Ergänzungen nach dem Stande der neuesten Literatur eingehend vorgenommen. Es wurde aber auch ein neues Kapitel „Physikalische Chemie in der Biologie“, das Prof. S. H. Hedin in Upsala vorzüglich bearbeitete, eingefügt. Das Lehrbuch braucht keine besondere Fürsprache mehr, es ist schon lange allgemein als erstklassiges Werk anerkannt und seine Neuauflage wird ohne Zweifel, wie sie auch vollauf verdient, durchweg mit Freude begrüsst werden. *Zentralbl. f. d. ger. Physiol. d. Stoffwechsels.*

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Grundriss

der

pathologischen Anatomie.

Von Professor Dr. **Hans Schmaus** in München.

Neunte Auflage.

Neu bearbeitet und herausgegeben von

Professor Dr. **Gotthold Herxheimer** in Wiesbaden.

Mit 563 grösstenteils farbigen Abbildungen im Text und auf 17 Tafeln.

Preis gebunden Mk. 18.—.

Bereits $1\frac{1}{2}$ Jahre nach der 8. Auflage des bekannten Lehrbuches hat sich diese neue Auflage als notwendig erwiesen. Man ersieht daraus, dass die Bedeutung des Buches als Lehrbuch noch in keiner Weise nachgelassen hat, ja vielmehr noch gesteigert worden ist. Herxheimer hat auch in dieser Auflage die Grundanlage des Buches, die ihm von Schmaus gegeben wurde, beibehalten. Vieles ist den neueren Anschauungen entsprechend geändert worden. Ganz besonders sind zahlreiche neue Abbildungen hinzugekommen und veraltete durch bessere ersetzt. Die früher auf Tafeln verteilten Abbildungen sind jetzt zum grossen Teil dem Text eingereiht. So hat das an und für sich schon ausgezeichnete Buch weitere Verbesserungen erfahren und wird sich unzweifelhaft auch in Zukunft der berechtigten Beliebtheit der Studenten und Ärzte erfreuen, denen dasselbe hier nochmals aufs wärmste empfohlen werden soll.

Berliner klinische Wochenschrift.

. . . . . Es kann nicht geleugnet werden, dass hierdurch die Brauchbarkeit des Werkes noch wesentlich erhöht worden ist . . . . .

Hauser i. d. Münchener Medizinischen Wochenschrift

. . . . . Diese Zahlen allein schon beweisen, wie sehr die Herausgeber des Grundrisses, Schmaus und nach dessen Tod Herxheimer, es sich angelegen sein liessen, das Werk nicht nur durch Berücksichtigung der Fortschritte der wissenschaftlichen Forschung stets auf moderner Höhe zu erhalten, sondern auch mehr und mehr durch Umarbeitung und Neubearbeitung dieser und jener Abschnitte weiter auszubauen.

Auch Herxheimer hat an dem Grundsatz festgehalten, möglichste Reichhaltigkeit des Inhaltes mit knapper, aber leichtverständlicher Form der Darstellung zu verbinden . . . .

„Unter dem Gesichtswinkel der Zusammenfassung des Zusammengehörenden mit möglichster Vermeidung von Wiederholungen und der Klarheit des Ausdruckes wurde das ganze Werk neu durchgearbeitet." H. hat geändert, ergänzt, ausgemerzt. Die Abbildungen sind um 171 vermehrt — das vortreffliche Buch steht allen Wissbegierigen in neuer tadelloser Verfassung zur Verfügung.

Dippe i. Schmidts Jahrbücher der Medizin.

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Lehrbuch

der

topographischen Anatomie

für Studierende und Ärzte.

Von

Dr. H. K. Corning,

Professor e. o. und Prosektor an der Universität Basel.

Dritte vollständig umgearbeitete Auflage.

Mit 667 Abbildungen, davon 420 in Farben.

Preis Mk. 16.60.

Das vorliegende Prachtwerk füllt eine der empfindlichsten Lücken unter den Lehrmitteln des Studierenden und des Arztes aus. Das Studium der Anatomie setzt sich aus zwei grossen Phasen zusammen. Zuerst kommt die Detailarbeit, das Kennenlernen aller Einzelheiten, gewissermaßen die Analyse. Für diesen Teil des Studiums fehlt es nicht an ausgezeichneten Lehrbüchern und Atlanten. Dann folgt die Synthese — die Zusammenfügung des riesigen Mosaikbildes, all der feinsten Einzelheiten zu einem grossen Ganzen. Diese Endetappe ist die wichtigste im ganzen Studium der Anatomie. Erst die topographische Zusammenfassung gibt dem starren Bau das richtige Relief — die unzähligen Namen, Begriffe und Vorstellungen werden lebendig — die Synthese hat sich vollzogen. Für diese Phasse des Studiums der Anatomie fehlt es auch nicht an Lehrbüchern, es sei an Rüdinger, Hildebrand, an Joessel-Waldeyer erinnert, jedoch entspricht keines derselben einem Ideale. Während die beiden ersten sehr knapp, fast zu knapp gehalten sind, gleicht letzteres mehr einem Handbuche und ist mit all seinen Detailangaben mehr für den Fachgelehrten bestimmt. Hier setzt nun das Werk Cornings ein. Es erschöpft auf etwa 700 Seiten das gesamte Gebiet der topographischen Anatomie. Eine Fülle sorgfältigster, wundervoll wiedergegebener Abbildungen erleichtert das Studium ungemein. Eine grosse Anzahl der zum Teil farbigen Bilder entstammt der Künstlerhand Albreht Mayers. Der Text ist leicht und flüssig geschrieben und zeichnet sich durch grosse Klarheit aus. Wir wünschen dem ausgezeichneten Werke die weiteste Verbreitung. *Abderhalden i. d. Medizin. Klinik.*

In kurzer Zeit (seit 1907) ist die 3. Auflage dieses Lehrbuches erschienen und dieser Erfolg ist wohl verdient. Wir besitzen keine andere Darstellung der topographischen Anatomie, welche in so zielbewusster Abgrenzung das Wesentliche bringt und die weniger typischen und bedeutsamen Details den umfangreicheren Handbüchern zur Berücksichtigung überweist. Die topographische Beschreibung ist überall klar und knapp und gibt eine so plastische Vorstellung der Lageverhältnisse, wie Worte und Abbildungen es überhaupt zu leisten vermögen. Die zum grossen Teil farbigen Figuren sind sehr gut gezeichnet nnd mit bester Technik reproduziert. Das inhaltlich und bildlich vorzüglich ausgestattete Werk bedeutet zweifellos eine ganz wesentlichere Bereicherung unserer anatomischen Lehrmittel.

H. Piper (Berlin) i. Zentralbl. f. Physiologie..

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Einführung

in die

experimentelle Entwickelungsgeschichte

(Entwickelungsmechanik).

Von Dr, **Otto Maas,**

a. o. Professor an der Universität München.

Mit 135 Figuren im Text. — Preis Mk. 7.—.

Leider etwas verspätet gelangen wir dazu, ein Werk zu besprechen, dessen Erscheinen nicht nur für die Vertreter der Entwicklungsgeschichte, sondern auch für die Pathologen wertvoll gewesen ist. In wenigen Jahren hat sich die von W. Roux inaugurierte, durch Weismann, die Brüder Hertwig, Driesch, Herbst u. a, geförderte neue Wissenschaft der Entwickelungsmechanik zu einem stattlichen Bau entwickelt. Eine Fülle interessanter Tatsachen ist festgestellt, zahlreiche neue überraschende Gesichtspunkte sind durch planmäßiges Vorgehen gewonnen worden. Die gesamte Biologie hat für die Bewertung physikalisch-chemischer Einflüsse auf die Zelle einerseits, der noch -- und vielleicht immer — unerklärlichen vitalen Reaktionen anderseits, wesentliche Förderung erfahren . . . .

. . . . Hier wie bei den früheren Hauptkapiteln würde es zu weit führen, alle berührten Fragen auch nur zu erwähnen. Aber wir glauben schon durch den Hinweis auf die Grundanschauung und einzelne Ergebnisse des Maasschen Werkes seinen Wert einigermaßen erwiesen zu haben. Die Bedeutung der Entwickelungsmechanik für Biologie und Pathologie wird durch diesen Grundriss in so klarer und einleuchtender Form dargestellt, dass wir demselben nur die weiteste Verbreitung wünschen können. Möchte er auch in pathologischen Laboratorien das teratologische Experiment weiterhin einführen helfen.

Beneke (Königsberg). Zentralblatt f. allgem. Pathologie.

. . . . Der Verf., welcher selber einige wertvolle Experimente auf dem Gebiete der Entwickelungsmechanik gemacht hat, bietet uns ein kleines, aber seinem Zwecke der Einführung in das Gebiet der Entwickelungsmechanik entsprechendes Buch dar. Es ist aus Vorlesungen hervorgegangen, die der Autor in der gleichen Absicht gehalten hat und Maas war zweckmäßigerweise bestrebt, besonders die bereits ermittelten Tatsachen, weniger die verschiedenen zu ihrer Erklärung aufgestellten Theorien den Lesern vorzuführen.

Man darf sagen, dass Maas die Aufgabe, die er sich gestellt hat, im ganzen gut gelöst hat. Die Darstellung ist klar, die Einleitung der Kapitel setzt zumeist in sehr gut einführender Weise auseinander, worum es sich handelt und gibt die allgemeine Bedeutung des zu erwähnenden Details geschickt an. . . . .

. . . . Zum erstenmal in einem zusammenfassenden Werk wird hier auch die funktionelle Anpassung mehr als ganz aphoristisch behandelt. Das ist verdienstlich; und Maas bringt auch einige Beispiele seiner eigenen Beobachtung und interessiert sich offenbar für dies Gebiet. . . . .

. . . . So ist das Buch im ganzen als ein den Leser von den meisten Hauptsachen des neuen Gebietes in gewandter, leicht verständlicher und interessanter Darstellung unterrichtendes Werk zu bezeichnen. Wir begrüssen es daher als eine erfreuliche und nützliche Bereicherung der Literatur unseres Forschungsgebietes. . . . .

Prof. Roux im Archiv f. Entwickelungsmechanik der Organismen.

Druck von Carl Ritter, G. m. b. H., in Wiesbaden.

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Studien

über die

Neurofibrillen im Zentralnervensystem.

Entwickelung und normales Verhalten. Veränderungen unter pathologischen Bedingungen.

Nebst einem Atlas von 121 Abbildungen auf 20 Tafeln.

Von

Prof. Dr. Gotth. Herxheimer,
Prosektor am Städt. Krankenhaus Wiesbaden

und

Dr. Nikolaus Gierlich,
Spezialarzt für Nervenleiden, Wiesbaden.

Preis Mk. 25.—.

Bei den anatomischen Studien auf dem Gebiet des Zentralnervensystems hat das Fehlen einer brauchbaren Achsenzylinderfärbung, die den vorzüglichen Methoden der Markscheidenfärbung, wie wir sie vor allem Karl Weigert verdanken, ergänzend an die Seite treten könnte, sich lange störend bemerkbar gemacht. Nachdem in neuester Zeit die von Ramon y Cajal und Bielschowsky angegebenen Methoden der Silberimprägnierung die Darstellung der Neurofibrillen im Achsenzylinder ausserordentlich prägnant gestatten, ist die methodische Durcharbeitung normalen und pathologischen Materials mit diesen Methoden zu einem unabweisbaren Bedürfnis geworden. Das vorliegende Buch stellt nach dieser Richtung eine wesentliche Bereicherung der Fachliteratur dar, indem es nicht nur Entwicklung und Aufbau der Neurofibrillen im normalen Nervensystem und ihr Verhalten unter pathologischen Bedingungen unter ausschliesslicher Anwendung der Bielschowskyschen Methode zur Darstellung bringt, sondern durch zahlreiche, auf 20 Tafeln angeordnete, gut gelungene Abbildungen diese Verhältnisse einem breiteren Kreise von Ärzten anschaulich macht. Im Anschluss an Untersuchungen über Entwicklung und Verhalten der normalen Nervenfibrillen im Zentralnervensystem geben die Verff. an der Hand der ausgedehnten Literatur eine zusammenfassende Übersicht über die hier herrschenden allgemeinen Gesichtspunkte. . .

Berl. Klin. Wochenschrift.

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY MEDICAL CENTER
STANFORD, CALIFORNIA 94305
FOR RENEWAL: PHONE 497-6691

DATE DUE

XB
25
H571
1912
LANE
STORAGE

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIV MED CTR
APR 23 198
STANFORD, CA 94305

RB
25
H571
1912
LANE
STORAGE

Herxheimer, Gotth
Technik der pat
histologischen Un
Gotthold Herxheim
J.F. Bergmann, 19
xii, 393, [18]

Includes index

BOOK
A0000032

870411
HA /TS

G.E.STECHERT
& Co.
NEW YO